

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NAYARA CARVALHO POLIDO BELOTO

PACIENTES COINFECTADOS COM HIV e HEPATITE B e/ou C: ASPECTOS
CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, SUBTIPAGEM DO HIV-1 E IMPACTO NA
EVOLUÇÃO CLÍNICA PARA A AIDS

CURITIBA
2014

NAYARA CARVALHO POLIDO BELOTO

PACIENTES COINFECTADOS COM HIV e HEPATITE B e/ou C: ASPECTOS
CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, SUBTIPAGEM DO HIV-1 E IMPACTO NA
EVOLUÇÃO CLÍNICA PARA A AIDS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde, área de concentração em Doenças Infecciosas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dra. Sonia Mara Raboni.

CURITIBA
2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Beloto, Nayara Carvalho Polido

Pacientes coinfectados com HIV e Hepatite B e/ou C; aspectos clínicos, epidemiológicos, subtipagem do HIV-1 e impacto na evolução clínica para a AIDS / Nayara Carvalho Polido Beloto.-- Curitiba, 2014.

123 f.: il.; color.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dra. Sonia Mara Raboni

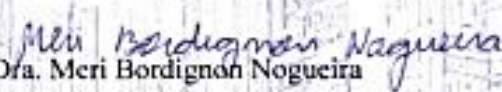
Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. HIV. 2. Hepatite B. 3. Hepatite C. 4. Coinfecção. I. Raboni, Sonia Mara. II. Título.

NLM: QW 168.5.H6

PARECER

Aos onze dias do mês de junho, do ano de dois mil e quatorze, a banca examinadora constituída pelas Professoras: Dra. Meri Bordignon Nogueira (UFPR), Dr. Dennis Armando Bertolini (UEM), Dra. Sonia Mara Raboni (UFPR) - Orientadora, exarou o presente parecer sobre a dissertação elaborada por **NAYARA CARVALHO POLIDO BELOTO**, aluna concluinte do **Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna - Mestrado da Universidade Federal do Paraná**, intitulada: **"PACIENTES COINFECTADOS COM HIV E HEPATITE B E OU C: ASPECTOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, SUBTIPAGEM DO HIV-1 E IMPACTO NA EVOLUÇÃO CLÍNICA PARA A AIDS"**. A Banca examinadora considerou que a aluna apresentou trabalho adequado para dissertação e o defendeu com segurança e propriedade nas arguições que lhe foram feitas, de modo a merecer a sua **aprovação**, sendo recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Mestre em Medicina Interna**, e a publicação de artigo em revista técnico-científica com corpo editorial, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições, cumpridas outras exigências previstas em normativas da pós-graduação.


Dra. Meri Bordignon Nogueira


Dr. Dennis Armando Bertolini


Dra. Sonia Mara Raboni

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus, que conduz meus caminhos e pelas graças recebidas.

A minha orientadora Dr^a Sonia Mara Raboni, por todo apoio, conhecimento, auxílio e principalmente pela oportunidade de fazer parte nesse projeto de tão grande importância.

Aos médicos do serviço de Infectologia do HC-UFPR e aos pacientes, pela participação voluntária e confiança em mim depositada.

Às colegas do Laboratório de Virologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, Luine Rosele Vidal, Meri Bordignon Nogueira, Gislene de Almeida Takahashi, Luciane Aparecida Pereira, Clyete Santos da Silveira, Bárbara Maria Cavalli, Marcirene Abinoski Andriow, Adelina Moraes e Ednéia Cavalcanti.

Às amigas Indiana Rotta e Jucélia S. Santos pelo auxílio na realização deste trabalho.

Aos alunos de medicina pelo importante auxílio na realização deste trabalho.

A UAD – Unidade de apoio diagnóstico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

A equipe laboratório de Anatomia Patológica clínica.

Aos meus pais, irmãos e namorado por me apoiarem em todas as minhas decisões e estarem sempre ao meu lado.

E por fim, ao Hospital de Clínicas da Universidade federal do Paraná, por proporcionarem ótima estrutura e conhecimento a nós alunos.

RESUMO

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) é um processo crônico caracterizado pela replicação viral contínua no hospedeiro. A alta taxa de replicação e elevado tamanho da população viral resulta subpopulações de vírus no mesmo indivíduo infectado denominado de *quasispecies*. O HIV-1, o vírus da hepatite B (HBV) e a hepatite C (HCV) podem ser diagnosticados em um mesmo paciente, pois compartilham rotas similares de transmissão, induzindo um pior prognóstico, e conduzindo a uma rápida evolução da infecção pelos vírus HBV e HCV. Apesar do seu impacto na qualidade de vida dos pacientes HIV positivo, informações sobre a coinfeção do HIV e hepatite virais no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná são escassas. Este estudo descreveu as características demográficas, o perfil clínico e caracterização do HIV-1 de pacientes coinfectados com HIV e hepatites B ou C. Realizou-se estudo transversal com 93 pacientes HIV positivos nos ambulatorios de referência do HC-UFPR no período de março de 2011 a março de 2013. Dados clínicos, demográficos e epidemiológicos foram pesquisados em revisão de registros médicos, questionário e entrevistas com pacientes, a avaliação dos subtipos do HIV-1 foi feita por caracterização genética das regiões *gag* e *vpu-env* do vírus analisado a partir de amostras de sangue periférico pela metodologia de sequenciamento e análise filogenética. Foi encontrada sorologia positiva tanto para o HBV quanto para o HCV em 6,6% dos pacientes monitorados, com predominância do sexo masculino (65%) sendo a média de idade entre os pacientes de 45 anos (IQR 40 a 52). O teste sorológico anti-HCV foi positivo em 79/93 (85%) indivíduos, e a infecção foi confirmada por Reação em cadeia da polimerase (PCR) em 72% dos casos, com uma maior frequência do genótipo 1a/b. Dezoito pacientes (19%) eram HIV/HBV (HBsAg +). A avaliação genotípica do HIV-1 revelou os seguintes subtipos: subtipo B (2), C (8) BC (7) e subtipo BF (1) para a região *gag*; subtipo B (4), C (7), BC (8) e subtipo BF (8) na região *vpu*. Entre os pacientes coinfectados, houve uma alta frequência de uso de drogas (50%) e as investigações para a detecção de coinfeção foram tardias com diferença de 4 anos entre o diagnóstico do HIV e das hepatites. Um baixo número de pacientes era elegível para o tratamento e, embora a resposta à terapia antirretroviral tenha sido boa, houve uma resposta muito pobre ao tratamento das hepatites. Considerando o aumento da sobrevivência de pacientes HIV positivos e da alta frequência de coinfeção com hepatite, estes resultados preliminares indicam a necessidade de protocolos destinados à investigação sistemática de pacientes portadores do HIV, buscando, assim, a detecção precoce e tratamento dos indivíduos coinfectados.

Palavras-chave: Vírus da imunodeficiência humana, hepatite B, hepatite C, coinfeção.

ABSTRACT

The human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection is a chronic process characterized by continuous viral replication in the host. The high replication level and the elevated viral population size results in subpopulation of virus in the infected person, called quasispecies. HIV-1, HBV and HCV coinfection can be diagnosed in the same patient, because these viruses share similar transmission routes, inducing a worst prognostic, leading to a rapid HBV and HCV infection evolution. Despite of its impact in life quality of HIV patients, information about HIV- HBV or HCV coinfection at HC-UFPR is scarce. This study describes the demographic characteristics, the clinical profile and the characterization of HIV-1 subtypes of HIV-HBC or HBV coinfecting patients. It was carried out sectional study that included 93 HIV positives out patients from HC-UFPR reference clinics from March 2011 to March 2013. Clinical, demographic and epidemiological data were evaluated by reviewing of medical registers, questionnaire and interviews with patients; HIV-1 subtype evaluation carried out by madenucleotide sequencing of gag and vpu-env viral regions. Positive serology for both HBV and HCV was found in 6.6% of the patients monitored, with predominance of male (65%) and the average age of the patients was 45 (IQR 40-52). A anti-HCV test was positive in 79/93 (85%) of the individuals and the infection was confirmed by PCR in 72% of the cases, with a higher frequency of genotype 1a/b. Eighteen patients (19%) were HIV/HBV (HBsAg+). The HIV-1 genotypic evaluation revealed the following subtypes: subtype B (2), C (8) BC (7) and subtype BF (1) for gag region; subtype B (4), C (7), BC (8) and subtype BF (8) for vpu region. Among coinfecting patients, there was a high frequency of drug use (50%) and the investigations for detection of coinfection were conducted late with a difference of 4 years between HIV and hepatitis diagnostic. A low number of patients were eligible for the treatment, although the antiretroviral therapy response was adequate; there was a very poor response to hepatitis treatment. Considering the high survival of HIV patients and the high frequency of hepatitis coinfection, our preliminary results indicate the need of protocols destined to systematic investigation of HIV patients, seeking of an earlier detection and treatment of coinfecting patients.

Keywords: Human immunodeficiency virus, hepatitis B, hepatitis C, coinfection.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO GENOMA DO HIV-1	25
FIGURA 2. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO VÍRUS DO HIV-1	27
FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO CICLO REPLICATIVO DO HIV-1	29
FIGURA 4. DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DO HIV-1 ATÉ O ANO 2013	31
FIGURA 5. DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 NO BRASIL	33
FIGURA 6. DISTRIBUIÇÃO DO HIV-1 E SEUS SUBTIPOS NO PARANÁ, EM ADULTOS	34
FIGURA 7. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO CICLO REPLICATIVO DO VÍRUS DA HEPATITE B.	38
FIGURA 8. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO CICLO REPLICATIVO DO VÍRUS DA HEPATITE C	43
FIGURA 9. ESQUEMA DE OBTENÇÃO DO NÚMERO DE PACIENTES COINFECTADOS	58
FIGURA 10. ESQUEMA DO GENOMA DO HIV-1 COM AS REGIÕES ESTUDADAS	63
FIGURA 11. DISTRIBUIÇÃO POR GÊNERO DOS PACIENTES	69
FIGURA 12. DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES USUÁRIOS DE DROGAS INJETÁVEIS	71
FIGURA 13. DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES HIV-1+ COM INVESTIGAÇÃO PARA HBV OU HCV EM USO DE TERAPIA ANTIRRETROVIRAL.	73
FIGURA 14. DISTRIBUIÇÃO DOS MARCADORES SOROLÓGICOS PARA HBV E HCV REALIZADOS NOS PACIENTES HIV-1.	73
FIGURA 15. CLASSIFICAÇÃO DOS 88 PACIENTES HIV-1+ CONFORME	76
FIGURA 16. ACHADOS DE BIÓPSIA HEPÁTICA EM 15 PACIENTES COINFECTADOS COM HIV-1/HBV.	77
FIGURA 17. ACHADOS DE ULTRASSOM ABDOMINAL EM 18 PACIENTES HIV COINFECTADOS COM HBV.	77
FIGURA 18. PACIENTES COINFECTADOS HIV/HBV - TRATAMENTO E EVOLUÇÃO E EVOLUÇÃO CLÍNICA.	78

FIGURA 19. CONFIRMAÇÃO DA INFECÇÃO PELO HCV PELA METODOLOGIA DA PCR EM PACIENTES COM HIV-1.....	79
FIGURA 20. DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS DO HCV EM 49 PACIENTES.....	79
FIGURA 21. ACHADOS DE BIÓPSIA EM 37 PACIENTES COINFECTADOS CIM HIV-1/HCV.....	80
FIGURA 22. ACHADOS DE ULTRASSON ABDOMINAL EM 39 PACIENTES COINFECTADOS COM HIV-1/HCV.....	80
FIGURA 23. RESPOSTA À TERAPIA PARA O HCV EM PACIENTES COINFECTADOS COM HIV-1/HCV.....	81
FIGURA 24. GENÓTIPOS DO HCV E RESPOSTA AO TRATAMENTO EM PACIENTES COINFECTADOS POR HIV E HCV.....	81
FIGURA 25. REPRESENTAÇÃO DA PCR PARA B-GLOBINA HUMANA EM	82
FIGURA 26. REPRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS DA PCR PARA OS GENES GAG E VPU-ENV DO HIV-1 EM GEL DE AGAROSE 1% CONTENDO BROMETO DE ETÍDIO.....	83
FIGURA 27. ÁRVORE FILOGENÉTICA DE SEQUÊNCIAS DO HIV-1 DE PACIENTES COINFECTADOS COM HBV OU HCV ATENDIDOS NO HC-UFPR, CONTITUÍDA PELO MODELO <i>NEIGHBOR JOINING</i> , COM BASE EM UMA SEQUENCIA DE 501 NUCLEOTÍDEOS DA REGIÃO DO GENE VPU-ENV, E UM PAINEL DE REFERÊNCIA DE SEQUENCIA OBTIDA DO <i>GenBank</i> . AS SEQUÊNCIAS DO <i>GenBank</i> SÃO IDENTIFICADAS PELOS SUBTIPOS, SEGUIDO DOS PAÍSES DE ORIGEM E O NÚMERO DE ACESSO. AS SEUQUÊNCIAS DO HIV-1 DOS PACIENTES ESTÃO IDENTIFICAADAS PELO SUE RESPECTIVO NÚMERO.	84
FIGURA 28. ÁRVORE FILOGENÉTICA DE SEQUÊNCIAS DO HIV-1 DE PACIENTES COINFECTADOS COM HBV OU HCV ATENDIDOS NO HC-UFPR, CONTITUÍDA PELO MODELO <i>NEIGHBOR JOINING</i> , COM BASE EM UMA SEQUENCIA DE 501 NUCLEOTÍDEOS DA REGIÃO DO GENE VPU-ENV, E UM PAINEL DE REFERÊNCIA DE SEQUENCIA OBTIDA DO <i>GenBank</i> . AS SEQUÊNCIAS DO <i>GenBank</i> SÃO IDENTIFICADAS PELOS SUBTIPOS, SEGUIDO DOS PAÍSES DE ORIGEM E O	

NÚMERO DE ACESSO. AS SEUQUÊNCIAS DO HIV-1 DOS PACIENTES ESTÃO IDENTIFICAADAS PELO SUE RESPECTIVO NÚMERO.	86
FIGURA 29. DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 DE ACORDO COM O	89
FIGURA 30. DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 DE ACORDO COM	89
FIGURA 31. DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 EM 11 PACIENTES COINFECTADOS COM HIV/HBV OU HIV/HCV, COM CARGA VIRAL DO HIV DETECTÁVEL.	90

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. RAÇA E ESCOLARIDADE DOS PACIENTES HIV COINFECTADOS COM HEPATITES B E/OU C.	70
TABELA 2. DADOS SOBRE O COMPORTAMENTO SEXUAL DOS PACIENTES HIV COINFECTADOS COM E HEPATITES B E/OU C.....	71
TABELA 3. OUTROS FATORES INVESTIGADOS COMO USO DE PIERCING, TATUAGEN OU TRANSFUSÃO SANGUÍNEA.	72
TABELA 4. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, EPIDEMIOLÓGICAS E LABORATORIAIS	75
TABELA 5. RESULTADO DA ANÁLISE FILOGENÉTICA DO GRUPO EM ESTUDO, DE ACORDO COM OS GENES <i>GAG</i> E <i>VPU-ENV</i>	87

LISTAS DE QUADROS

QUADRO 1. INTERPRETAÇÕES DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS NA INFEÇÃO PELO HBV.....	48
QUADRO 2. INICIADORES UTILIZADOS NA AMPLIFICAÇÃO DOS FRAGMENTOS DOS GENES GAG E VPU-ENV.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC - Lamivudina

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ATV - Atazanavir

CREA-SESA - Centro Regional de Especialidades da Secretaria da Saúde do Paraná

CRF - Formas Recombinantes Circulantes

CV - Carga Viral

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DST - Doença Sexualmente Transmissível

EIE - Enzima Imunoensaio

EV - Via Endovenosa

HBV - Vírus da Hepatite B

HCC - Carcinoma Hepatocelular

HC-UFPR - Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Paraná

HCV - Vírus da Hepatite C

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

IFN - Interferon alfa

IQR - Intervalo Interquartil

LSD - Dietilamida Ácido Lisérgico

LT CD4+ - Linfócito T CD4+

LTR - Repetições Terminais Longas

pb - Pares de base

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PM - Peso Molecular

RIBA - Immunoblot Recombinante

RNA - Ácido Ribonucleico

RPM - Rotação por minuto

RTV - Ritonavir

SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SIV - Vírus da Imunodeficiência Símia

SUS - Sistema Único de Saúde

TARV - Terapia antirretroviral

TCLI - Termo de Consentimento Livre Informado

TFV - Tenofovir

TR - Transcriptase Reversa

UD - Usuário de Drogas

UDI - Usuário de Drogas Injetáveis

LISTA DE SÍMBOLOS

NaOAc - Acetato de sódio

α - Alfa

μ - Micro

nm - Nanômetro

μM – Micro Molar

∞ - Infinito

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
1.1. OBJETIVOS	21
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
1.3. JUSTIFICATIVA	22
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1. O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)	23
2.1.1 Genoma e Estrutura do HIV	24
2.1.2 Origem do HIV	27
2.1.3 Ciclo de Replicação do HIV	28
2.1.4 Infecção pelo HIV	29
2.1.5 Epidemiologia do HIV-1	30
2.1.6 Diversidade genética - Grupos e Subgrupos do HIV-1	31
2.1.7 Distribuição dos subtipos do HIV-1	32
2.1.8 Distribuição dos subtipos do HIV-1 no Brasil e no estado do Paraná....	33
2.1.9 Importância da detecção dos subtipos do HIV-1	34
2.2 HEPATITES VIRAIS	35
2.3 HEPATITE B	36
2.3.1 Estrutura viral e história natural do HBV	36
2.3.2 Ciclo replicativo do HBV	37
2.3.3 Subtipos do HBV.....	38
2.3.4 Infecção Aguda do HBV	38
2.3.5 Infecção Crônica do HBV.....	39
2.3.6 Tratamento do HBV	39
2.4 HEPATITE C	40
2.4.1 Estrutura viral e história natural do HCV	41
2.4.2 Ciclo Replicativo do HCV	42
2.4.3 Subtipos do HCV	43
2.4.4 Infecção Aguda do HCV	44
2.4.5 Infecção Crônica do HCV	44
2.4.6 Tratamento do HCV	45

2.5 DIAGNÓSTICO DO HBV E HCV	47
2.5.1 Diagnóstico clínico	47
2.5.2 Diagnóstico laboratorial	47
2.5.3 Diagnóstico laboratorial do HBV	48
2.5.4 Diagnóstico laboratorial do HCV	49
2.6 COINFEÇÃO DO HIV E HEPATITES VIRAIS.....	49
2.6.1 Coinfecção HIV/HBV	49
2.6.2 Coinfecção HIV/HCV	53
3. MATERIAIS E MÉTODOS	57
3.1 Casuística	57
3.1.1 Tipo de estudo	57
3.1.2 Seleção dos pacientes.....	57
3.2 Métodos	60
3.2.1 Obtenção do concentrado de leucócitos (<i>buffy coat</i>).....	60
3.2.2 Extração do DNA proviral do HIV-1	60
3.2.3 Amplificação do material genético por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR)	61
3.2.3.1 PCR para o gene da β -globina humana	61
3.2.3.2 Amplificação do material genético do HIV-1	62
3.2.3.3 PCR para o gene gag	63
3.2.3.4 PCR para o gene vpu-env	64
3.2.3.5 Purificação do produto de PCR	66
3.2.3.6 Reação de Sequenciamento Nucleotídico	66
3.3 Análise estatística	67
3.4 Custos	67
4. RESULTADOS	69
4.1 Características demográficas, epidemiológicas e clínicas dos pacientes incluídos no estudo.	69
4.2 Coinfecção HIV/HBV e HIV/HCV	73
4.3 Coinfecção HIV/HBV	76
4.3 Coinfecção HIV/HCV	78
4.4 Subtipagem do HIV-1	82
4.4.1 Sequências analisadas com base no gene <i>gag</i>	83
4.4.2 Sequências analisadas com base no gene <i>vpu-env</i>	85

4.4.3 Distribuição dos subtipos de acordo com as hepatites B e C	88
5. DISCUSSÃO.....	91
CONCLUSÕES	102
REFERÊNCIAS.....	104
APÊNDICE	116
APÊNDICE 1. QUESTIONÁRIO UTILIZADO NA PESQUISA	116
APÊNDICE 2. TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	121
ANEXO.....	123
ANEXO 1. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HC- UFPR	123

1. INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um problema de saúde pública global. O Brasil é um dos países da América Latina mais afetado pela infecção (RABONI *et al.*, 2010). Segundo o Ministério da Saúde, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos e Notificação (Sinan), de 2000 a 2012, 317.245 de casos confirmados de pessoas vivendo com HIV, o vírus hepatite B (HBV) e o vírus hepatite C (HCV), compartilhando as vias de transmissão mais comuns como a via sexual, seguida de uso de drogas injetáveis e transfusão sanguínea (BRASIL, 2012).

A prevalência da coinfeção com o HIV e HBV ou HIV e HCV pode variar de acordo com os fatores de risco para a aquisição da infecção. Estudos dizem que cerca de metade dos pacientes portadores do HIV são coinfectados com HBV ou HCV, com impacto na qualidade de vida desses pacientes (TOVO *et al.*, 2006).

Estima-se que a prevalência da coinfeção HIV e HBV no Brasil é em torno de 5,3% a 24,3% (PUOTI *et al.*, 2002), contribuindo para uma taxa de cronicidade do HBV em até cinco vezes mais do que nos casos de monoinfecção, além de ter um risco maior de hepatotoxicidade no uso das drogas antirretrovirais (HOFFMANN & THIO, 2007).

Com relação a coinfeção do HIV e HCV no Brasil, as taxas de prevalência desta coinfeção situam-se entre 9,2% e 54,7%, conforme distribuição geográfica e fatores de risco para aquisição da doença (MENDE-CORRÊA *et al.*, 2010). O HIV, agente etiológico da síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) e o HCV compartilham os mesmos mecanismos de transmissão. Isso explica a alta frequência de infecção pelos dois vírus, sendo mais comum em usuários de drogas injetáveis e pacientes transfundidos (SILVA e BARONE, 2006).

Com relação à variabilidade do HIV, a maioria dos relatos no Brasil mostra maior frequência do subtipo B, seguida por subtipos F1, C e formas recombinantes. Estudos mostraram a prevalência de diferentes subtipos principalmente na região Sul, Central e do Norte do Brasil, com um aumento da proporção dos subtipos C e F (RABONI *et al.*, 2010).

Apesar da importância da coinfeção do HIV e hepatites virais relatada com frequência em serviços de referência no atendimento destes pacientes, ainda não foi

feita uma investigação sistemática da coinfecção nos pacientes atendidos no Hospital de Clínicas da UFPR, por esta razão conhecer as características epidemiológica dos pacientes coinfectados com o HIV e HBV ou HIV e HCV atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e analisar o impacto da variabilidade genética do HIV sobre a evolução clínica para a aids nesses pacientes permitirá a adoção de protocolos institucionais que contribuirão para melhor atendimento desta população de pacientes.

1.1.OBJETIVOS

Avaliar a prevalência da coinfecção HIV e hepatite B ou HIV e hepatite C bem como seu impacto na evolução clínica para a aids nos pacientes coinfectados atendidos no Hospital de Clínicas da UFPR.

1.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar dados demográficos, epidemiológicos e clínicos dos pacientes HIV positivos coinfectados por HCV ou HBV.
- Realizar subtipagem do HIV em pacientes coinfectados com HCV ou HBV.
- Correlacionar os dados de subtipagem do HIV com as evoluções clínicas e resposta ao tratamento do HIV.
- Correlacionar os dados de variabilidade do HIV com os fatores de risco para a aquisição das infecções virais presentes.

1.3.JUSTIFICATIVA

O HIV e as hepatites virais são um problema de saúde pública no Brasil e no mundo, principalmente devido compartilhamento de rotas de transmissão, acentuando a necessidade de se fazer estudos com pacientes HIV positivos coinfectados com os vírus das hepatites B e/ou C.

A presença de hepatites em portadores de HIV causa impacto na qualidade de vida e apresenta importância no prognóstico desses pacientes podendo interferir no resultado da terapêutica aplicada.

Apesar da relevância da coinfecção, ela ainda não foi investigada de modo sistemático entre os pacientes atendidos nos ambulatórios do HC-UFPR, razão pela qual decidiu-se pela realização do estudo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)

A síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) foi descrita em 1983 no Instituto Pasteur, em Paris, pelos virologistas Luc Montagnier e Françoise Barré-Sinoussi (World Health Organization [WHO], 2009). A epidemia da infecção pelo vírus da imunodeficiência (HIV) representa um fenômeno global, dinâmico e instável, cuja forma de ocorrência depende do comportamento humano individual e coletivo. O HIV destaca-se entre as enfermidades infecciosas pela grave magnitude e extensão dos danos causados às populações (BRITO *et al.*, 2000).

A infecção pelo HIV no Brasil vem sofrendo múltiplas dimensões levando a transformações significativas na epidemiologia da doença no país (BRITO CASTILHO e SZWARCOWALD, 2000).

Em 1982 foi identificado a aids no Brasil pela primeira vez, sendo essa uma doença associada com o comportamento sexual, comprometendo principalmente os homossexuais. Nos últimos anos, vem ocorrendo importantes mudanças no perfil epidemiológico desta doença (LOPES, 1998). O aumento da transmissão por contato heterossexual resulta no crescimento de casos em mulheres infectadas, apontando um importante fenômeno para a epidemia (BRITO, CASTILHO e SZWARCOWALD, 2000). O Brasil é o país mais afetado pela infecção pelo HIV na América Latina (DOURADO, 2006).

A epidemia que, em sua primeira fase (1980 a 1986), caracterizava-se pela preponderância da transmissão em homens homo e bissexuais, de escolaridade elevada, em sua segunda fase (1987 a 1991), passou a caracterizar-se pela transmissão sanguínea, especialmente na subcategoria de usuários de drogas injetáveis (UDI), dando início a um processo mais ou menos simultâneo de pauperização e interiorização da epidemia, ou seja, mais pessoas com baixa escolaridade e de pequenas cidades do interior estavam se infectando (BRASIL, 2010). As variáveis sociais determinariam alterações na ecologia das doenças infecciosas, ou seja, extratos mais pobres e menos assistidos tornam-se mais vulneráveis à difusão destes agentes por razões biológicas (como pior imunidade) e

sociais (menor capacidade de ter suas demandas atendidas, restrição ao acesso a serviços de prevenção e tratamento por residência em locais com infraestrutura precária) (BASTOS e SZWARCOWALD, 2000).

Finalmente, em sua terceira fase (1992 até os dias atuais), um significativo aumento de casos por exposição heterossexual vem sendo observado, assumindo cada vez maior importância a introdução de casos do sexo feminino (feminização da epidemia). A exposição heterossexual representa a principal subcategoria de exposição em crescimento (em 1991, eram 21%, e em 1996/97 passam a 55%) (BRASIL, 2010). Atualmente a exposição heterossexual representa 52,7% (BRASIL, 2013).

2.1.1 Genoma e Estrutura do HIV

O HIV é um retrovírus da família *Retroviridae* de 100 nm de diâmetro, com estrutura esférica formada por um núcleo proteico contendo duas cópias idênticas de RNA de 9,2 kb, que constituem seu genoma e enzimas virais envolvidas por um envelope lipoprotéico, no qual se inserem as proteínas gp120 e gp 41. Pertence ao grupo dos retrovírus citopáticos e não oncogênicos que necessitam, para multiplicar-se, da enzima denominada transcriptase reversa (TR), responsável pela transcrição do RNA viral para uma cópia de DNA, que pode então integrar-se ao genoma do hospedeiro (GROTTO e PARDINI, 2006; PINTO e STRUCHINER, 2006).

O envelope do HIV é composto por duas principais glicoproteínas derivadas de um precursor comum, gp160, que se divide em um precursor menor, gp41, que está inserido no envelope lipídico, e um precursor maior, gp120, que é extracelular. Possui ainda capas proteicas internas - nucleocapsídeos, que apresentam, em sua maior porção, as proteínas p24 e p18, que protegem duas fitas idênticas de RNA e três enzimas fundamentais: transcriptase reversa, integrase e protease (SAVI e SOUZA, 1999).

Além dessas estruturas, o HIV contém três genes essenciais comuns a todos os retrovírus: *gag*, *pol* e *env* flanqueados pelo promotor de repetições terminais longas (LTR). O gene *gag* codifica proteínas que formam a matriz interna do vírus

maduro. O *gag* p55 precursor de uma poliproteína é clivado durante a maturação do vírus, produzindo diversas proteínas menores, incluindo a p17, p24 (maior antígeno do core), p7 (nucleoproteína), e p9. O gene *pol* expressa um precursor da proteína *gag-pol*, formado por um evento ribossomal mediado por uma sequência localizada na sobreposição *gag-pol*. A clivagem posterior do precursor *gag-pol* dá origem às três enzimas necessárias para a replicação viral, a protease, a transcriptase reversa e a integrase. O gene *env* codifica as proteínas do envelope encontradas na superfície do vírus, necessárias para a ligação e entrada do vírus na célula hospedeira. O *env* gp160 é fortemente glicosilado e é processado através de uma clivagem endoproteolítica, formando a glicoproteína gp120, as pequenas proteínas do envelope, e a proteína gp41 (STEFFY e STALL, 1991). A figura 1 representa o esquema do genoma do HIV-1 e todas as suas estruturas.

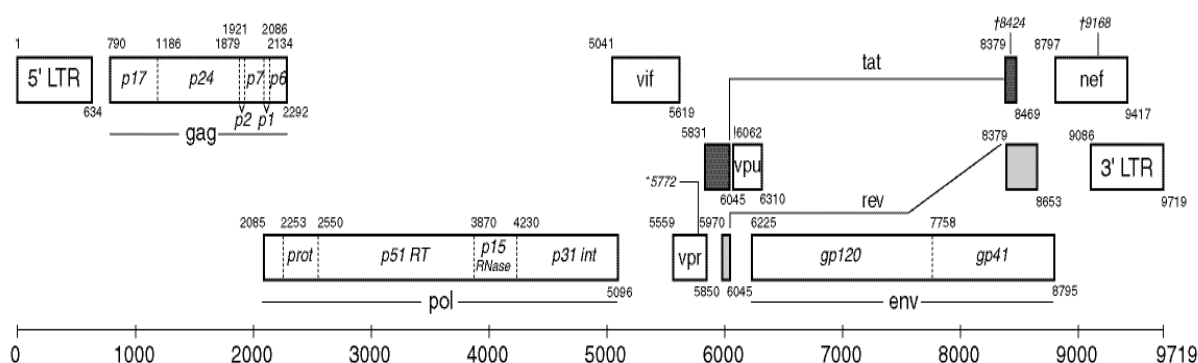


FIGURA 1. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO GENOMA DO HIV-1

FONTE: Los Alamos HIV (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/MAP/landmark.html>), 2014.

Juntamente com os genes estruturais do HIV estão pelo menos seis outros genes adicionais, tais como *vif*, *vpr*, *tat*, *rev*, *vpu* e *nef* que contribuem para a regulação da expressão do gene viral (GROTTO e PARDINI, 2006; STEFFY e STALL, 1991).

O gene *tat* é essencial para a replicação do vírus e funciona como um iniciador da expressão de todos os genes virais. O gene *rev* também é uma proteína com a função de controlar a expressão de mRNA. O *nef* é um regulador negativo da expressão. Estudos mostraram que mutações no gene *nef* resulta em um aumento da replicação em aproximadamente 10 vezes, sugerindo que o *nef* pode ter menor expressão viral agindo como um silenciador. A proteína *vif* aparentemente

desempenha um papel na infectividade do vírus. O gene *vpu* facilita a liberação de partículas virais maduras, retém maiores taxas de partículas virais intracelulares e expressam um valor mais baixo de partículas extracelulares (STEFFY e STALL, 1991).

O gene *vpr* aumenta a taxa de infecção pelo HIV estimulando a expressão do gene na LTR (STEFFY e STALL, 1991).

Na base molecular dos retrovírus, a enzima transcriptase reversa (TR) não possui propriedade de correção durante o processo de replicação viral, esta propriedade é comum à DNA-polimerase de outros organismos. A ausência de correção resulta em uma taxa de erro na incorporação de nucleotídeos de aproximadamente 10^{-3} a 10^{-5} por sítio, por ciclo de replicação. No caso do HIV-1, com aproximadamente 10 mil pares de bases, a cada dia, são produzidas em média 10^{10} novas partículas virais (PINTO e STRUCHINER, 2006). A figura 2 representa o vírus do HIV-1

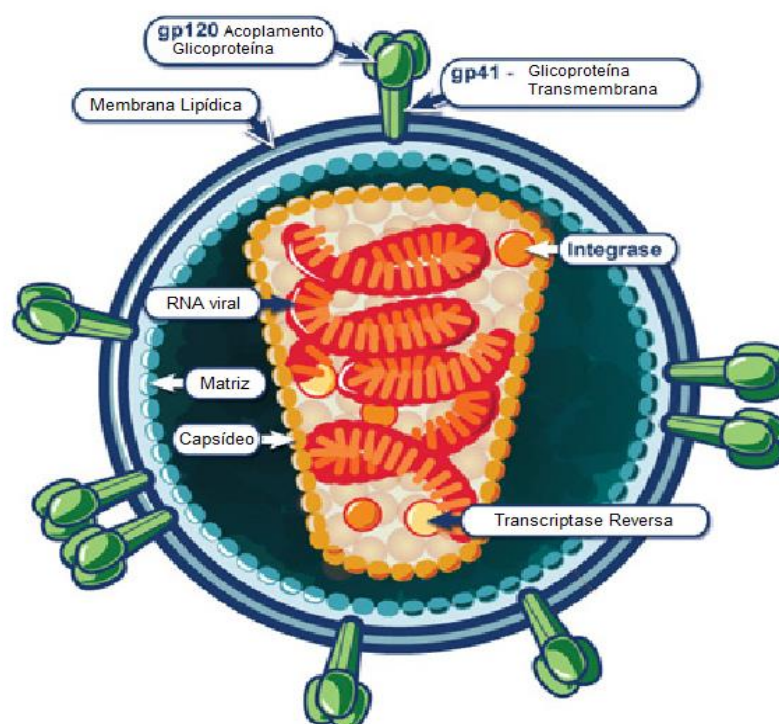


FIGURA 2. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO VÍRUS DO HIV-1

Fonte: Adaptado de: National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Disponível em: <<http://www.niaid.nih.gov/topics/HIV/AIDS/Understanding/Biology/Pages/structure.aspx>>. Acesso em 10/11/ 2012.

2.1.2 Origem do HIV

A análise molecular do genoma de retrovírus próximos ao do HIV possibilitou a construção da árvore filogenética que indica grau de parentesco entre o HIV e o SIV (vírus da imunodeficiência símia), retrovírus dos macacos (GRMEK, 1995).

A infecção pelo HIV identificada em meados do século XX deu início, provavelmente, na África Central pela contaminação humana pelo SIV, possivelmente pela manipulação de carne de chimpanzés (principalmente do macaco verde) infectados ou por contato com o animal infectado por arranhaduras ou mordidas, porém, essas hipóteses ainda permanecem sem explicação plausível e a origem do HIV-1 ainda não é muito bem definida (PINTO *et al.*, 2007).

O HIV divide-se em dois tipos, HIV-1 e HIV2. O HIV-1 classifica-se nos grupos M, N e O do HIV-1 estão intimamente relacionados a linhagem SIV. O grupo M é responsável pela epidemia global. O grupo N é um mosaico de SIV e HIV-1

indicando um evento de recombinação ancestral em um hospedeiro chimpanzé, o grupo foi documentado em Camarões. O grupo O teve origem, provavelmente, nos gorilas e já foi relatado em Camarões, Gabão, e Guiné Equatorial (GAO *et al.*, 1999). Mais recentemente, um novo tipo de HIV-1 denominado de P foi descrito em uma mulher proveniente do Camarões (PLANTIER *et al.*, 2009).

2.1.3 Ciclo de Replicação do HIV

O ciclo replicativo do HIV ocorre no interior do linfócito T e é constituído de várias etapas (MELO, BRUNI e FERREIRA, 2006). Primeiramente, ocorre a fusão do envelope viral com a membrana das células-alvo do HIV que expressa marcador de superfície celular CD4 (uma proteína tipo imunoglobulina expressa na superfície de células T e macrófagos primários), e ocorre a ligação da proteína gp 120 do envelope viral com a molécula de CD4. Após essa interação inicial, a alça V3 (principal região imunodominante do HIV, induzindo a formação de anticorpos neutralizantes e funcionando como alvo da resposta celular citotóxica) da proteína gp120 torna-se exposta e apta à ligação com co-receptores (receptores de citosinas). Depois desta interação, a proteína gp120 se dissocia da proteína gp41 que media o processo de fusão das membranas celular e viral através de um resíduo peptídico N-terminal hidrofóbico rico em glicina (GROTTO e PARDINI, 2006; PEÇANHA, 2002). O nucleocapsídeo viral penetra no citoplasma celular, liberando o RNA do vírus que, pela ação da transcriptase reversa, é convertido em DNA de fita dupla. Uma vez sintetizado, o DNA viral é integrado ao cromossomo celular pela ação de enzimas (GROTTO e PARDINI, 2006).

A partir daí o vírus pode permanecer latente e o DNA viral não é transcrito em RNAm viral, apenas permanecendo integrado ao DNA celular e replicado pela célula hospedeira (GROTTO e PARDINI, 2006).

Quando a célula for ativada, ocorrerá a transcrição do DNA viral e a formação de novos vírus (GROTTO e PARDINI, 2006) pela transcrição do RNA que é expresso a partir do promotor localizado na região 5' LTR e, então, a proteína *tat* se liga na dobra da região 5' LTR do RNA que será formado, aumentando a velocidade

da transcrição. O RNA transcrito é levado ao citoplasma onde é traduzido produzindo novas proteínas, seguido da montagem do vírus próximo à membrana celular na forma de proteínas imaturas que, depois do brotamento das partículas virais, sofrem maturação (clivagem das poliproteínas *gag* e *gag-pol* pela protease viral) tornando os vírions capazes de infectar linfócitos adjacentes (PEÇANHA, 2002). A figura 3 representa as fases do ciclo replicativo do HIV-1

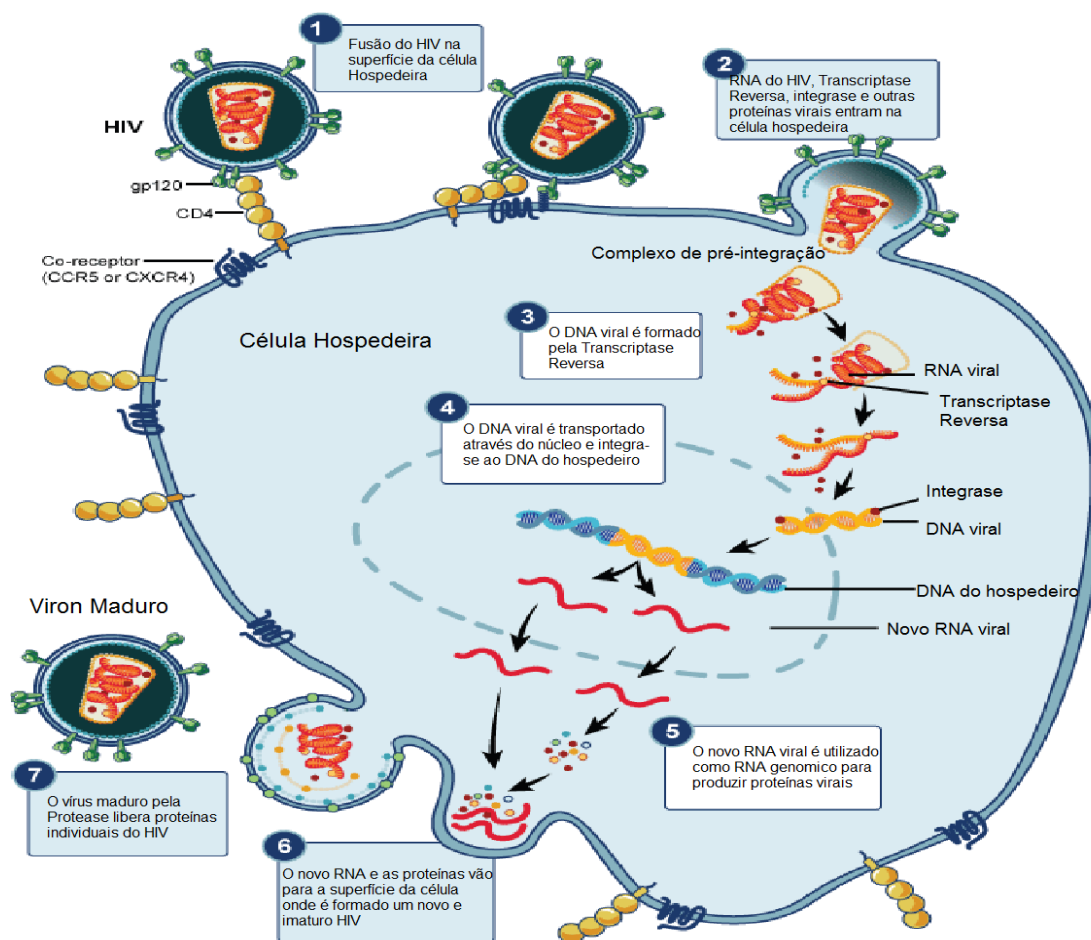


FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO CICLO REPLICATIVO DO HIV-1

FONTE: Adaptado de: National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Disponível em: <http://www.niaid.nih.gov/topics/HIVAIDS/Understanding/Biology/Pages/hivReplicationCycle.aspx>. Acesso em 10/11/2012.

2.1.4 Infecção pelo HIV

A infecção pelo HIV se caracteriza como uma doença crônica, marcada pela replicação viral contínua no hospedeiro, a qual permite a evolução *in vivo* de

populações de HIV-1, resultando na presença de múltiplas variantes em um mesmo hospedeiro, denominadas *quasispecies*, as quais podem ser encontradas em distintos compartimentos ou em um mesmo órgão no corpo do indivíduo infectado. Estas variantes podem pertencer a um mesmo subtipo, mas também a distintos subtipos, como já demonstrado pela existência de múltiplos recombinantes intersubtipos ou mesmo intergrupos (CASADO *et al.*, 2001).

O tempo de evolução da infecção pelo HIV tem permitido a classificação dos pacientes entre progressores lentos, típicos e rápidos, sendo esta associada a fatores virais (grau de variabilidade genética), imunes e características do hospedeiro. Com relação às características dos hospedeiros têm sido descrito que a presença de certos alelos, como HLA B*27 e B*57, genótipos heterozigóticos CCR5 Δ 32 e outros polimorfismos em CCR2, CCL3L1 e CCR5 estão associados à progressão lenta da infecção (BELLO *et al.*, 2005; SANDONIS *et al.*, 2009).

2.1.5 Epidemiologia do HIV-1

Desde que foi descrita, há mais de 20 anos, a aids supera todas as expectativas de gravidade (PIOT, *et al.*, 2001). Segundo o UNAIDS (2013), até o ano de 2012 o total global de pacientes infectados chegou em 35,3 milhões sendo que 25,0 milhões de pessoas infectadas pelo HIV estão localizadas da África Subsaariana; 260,000 no Oriente Médio e Norte da África; 3,9 milhões no Sul e Sudeste da Ásia; 880,000 no Leste da Ásia; 1,5 milhões na América Latina; 250,000 no Caribe; 1,3 milhões na Europa Oriental e Ásia Central; 860,000 na Europa Ocidental e Central; 1,3 milhões na América do Norte e 51,000 na Oceania.

Devido sua magnitude, a aids se destaca entre as enfermidades infecciosas emergentes. Desde a sua descrição até o ano 2000 foram notificados 190.949 casos de aids no Brasil, com uma distribuição não homogênea devido uma maior incidência nas regiões Sul e Sudeste (BRITO, CASTILHO e SZWAECWALD, 2000).

Segundo Garcia e Souza (2010), a epidemia do HIV teve um crescimento considerável entre as mulheres superando os homossexuais e bissexuais, isso, provavelmente, devido a razão entre sexos que vem diminuindo sistematicamente

passando de 26,5 homens para cada mulher em 1985, para 1,5 homens para cada mulher em 2005, sem dizer na velocidade com que a epidemia tem se expandido entre as pessoas entre 13 e 34 anos. A figura 4 representa a distribuição mundial do HIV-1 até o ano de 2013.



FIGURA 4. DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DO HIV-1 ATÉ O ANO 2013.

FONTE: Adaptado de: Report on the global AIDS epidemic – UNAIDS (2013).

2.1.6 Diversidade genética - Grupos e Subgrupos do HIV-1

São conhecidos dois tipos de vírus, o HIV-1 e o HIV-2, sendo o primeiro o responsável pela disseminação da epidemia. Devido a sua alta variabilidade genética, o HIV-1 é subdividido em grupos, subtipos e sub-subtipos. Análises filogenéticas sugerem que ocorreram três eventos de entrada independentes do vírus da imunodeficiência dos símios (SIV) entre os humanos, os quais estabeleceram os distintos grupos de HIV-1: M (major), N (non-M/Non-O) e O (outlier), e mais recentemente, o grupo P (GROTTO e PARDINI, 2006; LEITNER *et al*, 2000; PLANTIER *et al*, 2009). O grupo M foi o que se disseminou globalmente e atualmente é dividido em 9 subtipos (A – D, F – H, J e K) e em 58 formas recombinantes circulantes (CRF's), as quais são resultantes da recombinação dos

subtipos puros, mostrando uma grande diversidade genética viral. Os subtipos classificados como E e I são vírus recombinantes (CRFs) (GERETTI *et al.*, 2009; GROTTTO e PARDINI, 2006).

2.1.7 Distribuição dos subtipos do HIV-1

Em uma escala global, múltiplas cepas de HIV-1 co-circulam e se distribuem de uma maneira desigual em diferentes regiões do mundo, sendo alguns subtipos mais frequentes em determinadas regiões e relacionados com distintas formas de transmissão (GERETTI *et al.*, 2009). Apesar de não ser o mais frequente subtipo circulante, o genótipo B do HIV-1 é mais prevalente na América do Norte e do Sul, na Europa e na Austrália. Já foram também detectados em outros locais, incluindo Tailândia, Japão, África, China, Malásia e Índia. A maioria dos estudos e muito do que se conhece em relação a esta doença são aplicados para este genótipo. Por tal motivo, um dos fatores que mais se tem questionado com relação à variabilidade genética do HIV é sobre sua influência nos testes diagnósticos, testes de monitoramento de carga viral, assim como resposta aos antirretrovirais que atualmente dispomos para os pacientes com aids (GERETTI *et al.*, 2009; GROTTTO e PARDINI, 2006).

Em todo o mundo o subtipo C está associado com aproximadamente 48% das infecções (GERETTI *et al.*, 2009). Sabe-se que determinados genótipos estão relacionados com alguns modos de transmissão e fatores de risco, por exemplo, o subtipo F e uso de drogas endovenosas, subtipo C e transmissão heterossexual. O alto grau de variabilidade também é resultado do fenômeno de recombinação genética entre vírus diferentes (GROTTTO e PARDINI, 2006).

O Brasil apresenta um padrão de distribuição dos subtipos divergente. Estudos mostram que no Brasil, o subtipo B é o mais frequente, seguido dos subtipos C, F1 e das formas recombinantes BC e BF1 (CABRAL *et al.*, 2006; RABONI *et al.*, 2010).

2.1.8 Distribuição dos subtipos do HIV-1 no Brasil e no Estado do Paraná

No Brasil, até junho de 2008 cerca de 500.000 casos de aids foram reportados desde o início da epidemia em 1982 (BRASIL, 2010). Estudos sobre a distribuição genotípica do HIV-1 no país demonstram padrões diferentes de prevalências em distintas regiões. Na região sudeste, onde a epidemia iniciou, observa-se uma maior frequência do genótipo B, seguido do F e das formas recombinantes e, em menor percentual, do subtipo C (BRINDEIRO *et al.*, 2003), já na região sul observa-se um perfil bastante distinto de distribuição, com um aumento progressivo do subtipo C (20 a 50% dos casos), principalmente em mulheres e em pacientes recentemente infectados (BELLO *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.*, 2008; TOLEDO *et al.*, 2010).

A região norte do país concentra, em sua maioria o subtipo B seguido do subtipo F; na região nordeste também predomina o subtipo B seguido dos subtipos F e os recombinantes assim como na região Centro-Oeste do país (SALEMI *et al.*, 2005). A figura 5 demonstra a distribuição dos subtipos do HIV-1 no Brasil.



FIGURA 5. DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 NO BRASIL
FONTE: O autor, 2014.

Em estudo realizado por Raboni *et al.*, 2010, observou-se que mesmo dentro do Estado do Paraná há uma distribuição bastante divergente dos subtipos, com uma predominância subtipo B (55%), seguida dos subtipos C (27%), F (10%) e das formas recombinantes 8%, em pacientes adultos (≥ 13 anos). Tal distribuição provavelmente reflete a influencia das cidades-fronteiras na distribuição dos diferentes genótipos, assim como modos de transmissão similar em um determinado local. A figura 6 mostra a distribuição dos subtipos e formas recombinantes do HIV-1 em adultos, nas diferentes regiões do estado do Paraná.

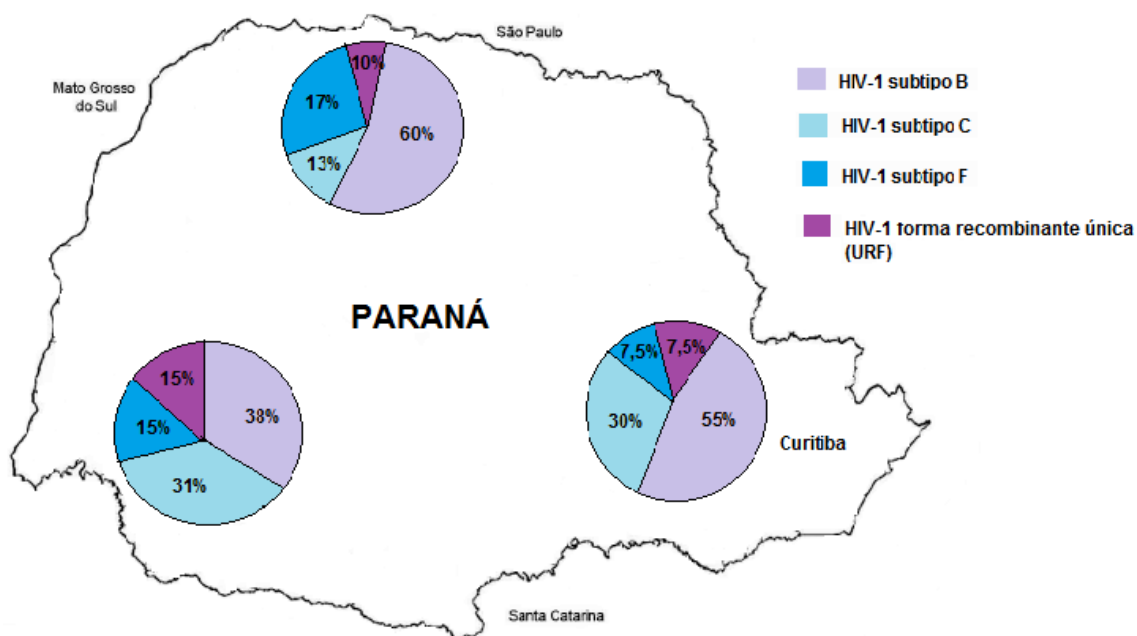


FIGURA 6. DISTRIBUIÇÃO DO HIV-1 E SEUS SUBTIPOS NO PARANÁ, EM ADULTOS
 FONTE: RABONI *et al.*, 2010

2.1.9 Importância da detecção dos subtipos do HIV-1

A classificação dos subtipos do HIV-1 tem base filogenética e pode ser descrita pela região *env* ou por todas as outras regiões do genoma viral (KORBER *et al.*, 2001).

Devido à natureza diploide, o HIV-1 pode ter potencial evolutivo elevado através de recombinações que, por sua vez, pode desencadear maior diversidade

viral. Essa recombinação pode ocorrer quando a célula é infectada com duas cepas diferentes do vírus que se multiplicam nela (BLACKARD, COHEN e MAYER, 2002).

A introdução do subtipo C do HIV-1 na epidemia atual, devida principalmente às formas de transmissão (transmissão sexual e por uso de drogas), pode estar relacionada à teoria de que esse subtipo é menos virulento, caracterizando uma menor progressão da doença, maiores períodos de infecções assintomáticas e maiores oportunidades para transmissão viral (ARIËN, VANHAM e ARTS, 2007).

As mudanças na distribuição do HIV-1 apoiam a necessidade de monitoramento da composição genética da epidemia e das variantes de transmissão que podem ter implicações para o desenvolvimento de vacinas, resposta às terapias antirretrovirais (THOMSON e NÁJERA, 2005).

2.2 HEPATITES VIRAIS

As hepatites virais são um problema de saúde pública no Brasil e no mundo. São doenças causadas por diferentes vírus (A, B, C, D e E,) que tem em comum o hepatotropismo. Possuem algumas características clínico-laboratoriais semelhantes, porém, apesar de atingirem o mesmo órgão (fígado), cada uma tem suas particularidades quanto à transmissão e/ou a evolução; além de possuírem uma enorme variedade de apresentações clínicas, que vão desde o portador assintomático, hepatite aguda, hepatite crônica, chegam até a cirrose e ao carcinoma hepatocelular. Os vírus A e E são preferencialmente transmitidos via fecal-oral e os B, C e D via parenteral. Os vírus A e B são os principais responsáveis pelas manifestações agudas da doença. A possibilidade de evoluir com comprometimento sistêmico e a capacidade de determinar infecções crônicas são importantes fatores de diferenciação dos vírus. O diagnóstico precoce da hepatite e a definição do agente etiológico são fundamentais para orientar o acompanhamento clínico destes pacientes e a detecção precoce da evolução para a cronicidade (ACRAS *et al.*, 2004; BRUNO e FACCIOTTO 2008; FREITAS *et al.*, 2008).

2.3 HEPATITE B

O vírus da hepatite B (HBV) pertence à família *Hepadnaviridae*, família que tem preferência pelas células hepáticas, e seu hospedeiro natural são os humanos. Devido a alta infectividade, poucas partículas virais são suficientes para desencadear a infecção (FONSECA, 2007).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 2 bilhões de pessoas no mundo já tiveram contato com este vírus e aproximadamente 350 milhões tornaram-se portadores crônicos (FERREIRA e SILVEIRA, 2004; FONSECA, 2007).

O Ministério de Saúde estima que, no Brasil, pelo menos 15% da população já esteve em contato com o vírus da hepatite B (FERREIRA e SILVEIRA, 2004; NUNES *et al.*, 2009) e cerca de 2 milhões de pessoas evoluíram para a cronicidade da doença (NUNES e LACET, 2009).

A transmissão do HBV se faz pelas vias parenteral e sexual sendo esta uma via importante de transmissão. Alguns grupos populacionais possuem maior risco de serem infectados pelo HBV, entre eles incluem profissionais de saúde, hemodialisados, homossexuais masculinos, hemofílicos, profissionais do sexo, usuários de drogas, imunossuprimidos e deficientes mentais. Além da infecção também mostrar-se altamente prevalente em familiares de portadores crônicos da doença (FERREIRA, 2000).

2.3.1 Estrutura viral e história natural do HBV

A partícula viral completa do HBV possui 42nm de diâmetro e é constituído por um invólucro (correspondente ao antígeno HBs – HBsAg), uma parte central conhecida como “core” (contém proteínas estruturais, proteínas com atividade enzimática e ácido nucléico), polimerase/transcriptase reversa e o polipeptídeo HBx (importante na replicação viral do HBV) (BOUCHARD e SCHNEIDER, 2004; MIURA *et al.*, 1991).

A replicação do DNA do HBV ocorre no citoplasma de células infectadas e sua estrutura é composta por um domínio N-terminal de 140 aminoácidos responsáveis pela formação de dímeros de proteínas e uma região C-terminal, rica em resíduos de arginina, responsável pela ligação dos ácidos nucleicos (MELEGARI, WOLF e SCHNEIDER, 2005).

2.3.2 Ciclo replicativo do HBV

Durante a infecção, o vírion do HBV se liga aos receptores de superfície e é internalizado. Em seguida, capsídeos migram para o núcleo dos hepatócitos, onde o genoma é reparado para formar um DNA circular covalentemente fechado (cccDNA), que é o modelo para o RNA mensageiro viral de transcrição. O RNAm viral é traduzido no citoplasma para produzir o envelope do vírus, o núcleo, a polimerase, e a proteína X (HBx) (GANEM e PRNCE, 2004).

O capsídeo virail incorpora o RNA viral genômico que é transcrito em DNA viral. O capsídeo resultante pode brotar para o retículo endoplasmático para ser envolvido e exportado a partir da célula ou reciclar o seu genoma no núcleo para a conversão para cccDNA (GANEM e PRNCE, 2004). A figura 7 ilustra a as fases do ciclo replicativo do HBV.

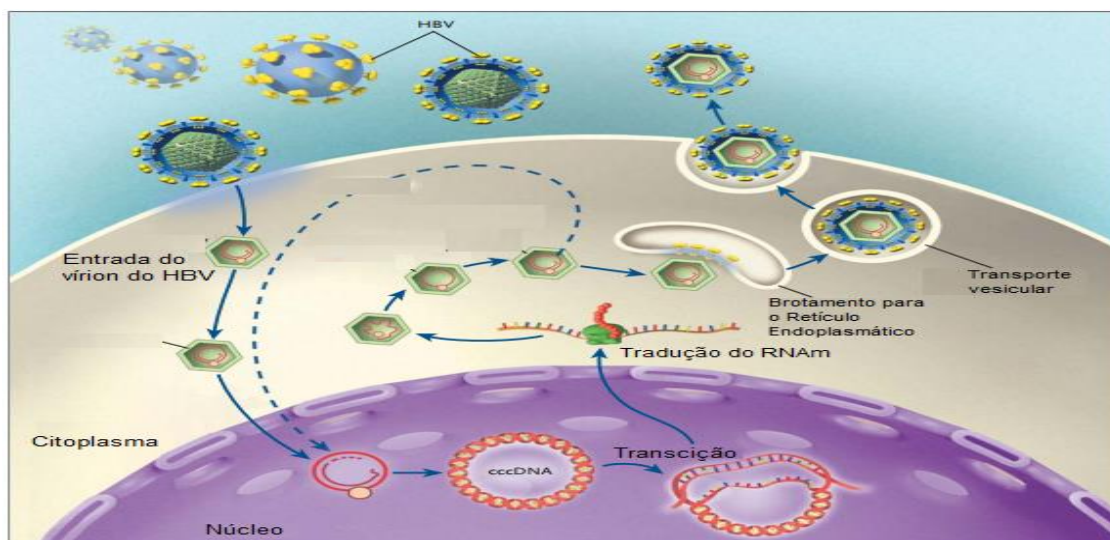


FIGURA 7. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO CICLO REPLICATIVO DO VÍRUS DA HEPATITE B.

FONTE: Adaptado de GANEM e PRNCE, 2004

2.3.3 Subtipos do HBV

O HBV possui uma grande diversidade viral possuindo dez genótipos diferentes nomeados de A a I, os quais podem influenciar tanto na gravidade da doença quanto na resposta ao tratamento (FONSECA, 2007).

A distribuição geográfica dos genótipos do HBV é variável, sendo o genótipo A o mais comum no noroeste da Europa e América do Norte; os genótipos B e C são mais comuns na Ásia; o genótipo D é mais encontrado no sul da Europa e na Índia. Porém, a distribuição dos genótipos E, F, G e o mais recentemente relatado genótipo H é menos clara (CONJEEVARAM e LOK, 2003).

2.3.4 Infecção Aguda do HBV

O HBV pode causar doença hepática aguda e crônica. Depois do período de incubação, cerca de 45 a 180 dias, ocorre o quadro de hepatite aguda, na maioria das vezes subclínica e anictérica. Classicamente, a infecção aguda pelo HBV evolui para a cura em 90% a 95% dos casos. Alguns portadores não apresenta doença

hepática (portadores sãos), enquanto outros mostram sinais de atividade inflamatória no fígado que podem desenvolver cirrose hepática ou hepatocarcinoma nas fases mais tardias da enfermidade (FERREIRA, 2000).

2.3.5 Infecção Crônica do HBV

A infecção pelo HBV é uma das principais causas de doença hepática crônica em todo o mundo. O risco de progressão para hepatite crônica na infecção pelo HBV chega a 10% dos casos em indivíduos adultos e até 95% dos casos em neonatos (FERREIRA, e BORGES, 2007; MIURA *et al.*, 1991).

Entre os principais fatores de risco para a cronificação da doença destacam-se: sexo masculino, indivíduos imunodeprimidos, portadores de doença renal crônica em diálise, pacientes pós-transplantados, homossexuais portadores de HIV, crianças portadoras da síndrome de Down, leucêmicos, variabilidade e mutação genética do vírus (MIURA *et al.*, 1991).

Os portadores de HBV crônico possuem os marcadores HBsAg (por mais de seis meses) e anti-HBe no soro (FONSECA e BORGES, 2007) e a progressão para esta fase pode ser influenciada pela idade do paciente e a forma de infecção.

2.3.6 Tratamento do HBV

O aparecimento de anticorpos anti-HBs é um indicativo da resolução do processo de cura pelo HBV (FERREIRA, 2000).

O objetivo do tratamento da HBV, principalmente na doença crônica, é suprimir a replicação do HBV e induzir a remissão da doença antes que ela evolua para cirrose e carcinoma hepatocelular (CONJEEVARAM e LOK, 2003). Atualmente, as drogas utilizadas para o tratamento da infecção pelo HBV são o interferon $\alpha 2b$ (IFN $\alpha 2b$), interferon peguilado $\alpha 2a$ (PEG-IFN $\alpha 2a$), a lamivudina, o tenofovir, o adefovir dipivoxil, o entecavir e o telbivudina (FERREIRA e BORGES, 2007).

Ao infectar a célula hepática, o HBV desloca seu DNA para o núcleo e se organiza em pequenos mini círculos de DNA covalentemente fechados (cccDNA) que mantêm a infecção intracelular e servem de molde para transcrição do RNA pré-genômico e só podem desaparecer com a morte dos hepatócitos, porém, nenhum desses antivirais consegue, em curto prazo, diminuir os níveis de DNA covalentemente fechados dos hepatócitos, de forma eficaz (FERREIRA e BORGES, 2007).

Novos antivirais e terapias imunomoduladoras estão sendo avaliados e podem desempenhar um papel-chave no tratamento da infecção pelo HBV (CONJEEVARAM e LOK, 2003).

Pode-se dividir os objetivos a serem alcançados com a terapêutica antiviral em três tópicos: supressão sustentada da replicação do HBV (DNA do HBV indetectável no soro, soroconversão HBeAg/anti-HBe, soroconversão HBsAg/anti-HBs); remissão total ou parcial da doença hepática (normalização das aminotransferases séricas, supressão da atividade necroinflamatória à biópsia hepática); diminuição do risco de desenvolvimento tardio de cirrose hepática e hepatocarcinoma, com consequente aumento da sobrevida (FERREIRA, 2000).

2.4 HEPATITE C

O vírus da hepatite C (HCV) pertence ao gênero *Hepacivirus* da família *Flaviviridae* e seu genoma é constituído por uma fita simples de RNA (FERREIRA e SILVEIRA, 2004).

O HCV é um problema de saúde pública mundial em função de sua alta prevalência (estimada em 2%, no Brasil varia entre 0,84% e 3,4%), elevado risco de evolução para cirrose, falência hepática e desenvolvimento de hepatocarcinoma (ACRAS *et al.*, 2004).

A hepatite C caracteriza-se por ser assintomática e ter curso clínico indolente. O HCV é transmitido principalmente via parenteral. Fatores de risco associados com esta infecção são uso de drogas injetáveis, injeção terapêutica não estéril e transfusão sanguínea (WASLEY e ALTER, 2000). Antes da seleção rigorosa dos

doadores de sangue, em 1991, o HCV era a maior causa de hepatite pós-transfusional e ainda permanece como tal em casos esporádicos (CONTE, 2000).

Outras formas de transmissão são controversas e menos frequentes como exposição ocupacional, perinatal e sexual ou a contaminação por meio de procedimentos como, realização de tatuagem, *piercing*, acupuntura, entre outros. No entanto, em cerca de 40% dos casos a forma de transmissão permanece desconhecida (WASLEY & ALTER, 2000).

A progressão da doença pode ser dramaticamente afetada por diferentes características relacionadas tanto ao hospedeiro, quanto ao vírus ou ao ambiente. Sabe-se que a coinfecção com o vírus HIV, em especial, leva a uma evolução mais rápida à cirrose e insuficiência hepática grave (BENHAMOU, BOCHET e MARTINO, 1999; BLACKARD, COHEN e MAYER, 2005).

2.4.1 Estrutura viral e história natural do HCV

O HCV é um vírus RNA com aproximadamente 9,7 kilobases que codifica uma poliproteína, com uma longa fase de leitura aberta distinguem-se as proteínas estruturais: core, E1 e E2 e as não estruturais responsáveis pela replicação viral (STRAUSS, 2001).

Devido a vários fatores como escassez de estudos prospectivos, frequente imprecisão dos dados sobre a época da contaminação, curso longo e assintomático da doença, fatores de confusão tanto ambientais como etilismo crônico e coinfeções, ou fatores do hospedeiro, entre eles os aspectos imunológicos dificultam a determinação da história natural da hepatite C (STRAUSS, 2001; VASCONCELOS *et al.*, 2006).

Uma das características do HCV é a capacidade de evadir-se do sistema imunológico do hospedeiro. Os casos de viremia crônica ocorrem entre 85 a 90% dos indivíduos infectados, que podem em sua maioria, desenvolver alguma lesão hepática crônica que potencialmente progride para cirrose e carcinoma hepatocelular. Porém, existem casos de pacientes que tem infecção persistente por

50 anos ou mais e não apresentam lesão significativa do fígado (LARSON e CARITHERS, 2001).

Em contraste, algumas pessoas podem progredir para cirrose e carcinoma hepatocelular rapidamente dentro de 10 a 15 anos. Normalmente, aproximadamente 20% dos indivíduos com infecção crônica pelo HCV desenvolvem cirrose em 20 anos (LARSON e CARITHERS, 2001).

2.4.2 Ciclo Replicativo do HCV

Os hepatócitos são as principais células-alvo, mas já foi descrito a presença da infecção em células do sistema imune, linfócitos, monócitos e células dendríticas (HANNO *et al.*, 2013; MacPARALAND *et al.*, 2009).

Devido à falta de um modelo eficiente para a compreensão do mecanismo de replicação do HCV é preciso basear-se, principalmente, em analogias sobre a caracterização de proteínas recombinantes do HCV. Utilizando esta informação limitada do ciclo de replicação do HCV é possível resumir o ciclo em 5 fases: 1) penetração na célula hospedeira e liberação do RNA no citoplasma da célula hospedeira; 2) a tradução do RNA de entrada, processamento da poliproteína e formação de um complexo associado com membranas intracelulares; 3) a síntese de um RNA intermediário; 4) a produção de novas moléculas de RNA que por sua vez, pode ser utilizado para a síntese de novas cadeias para a expressão da poliproteína; 5) liberação de vírus a partir das células infectadas (BARTENSCHLAGER e LOHMANN, 2000). A figura 8 ilustra as fases do ciclo replicativo do HCV.

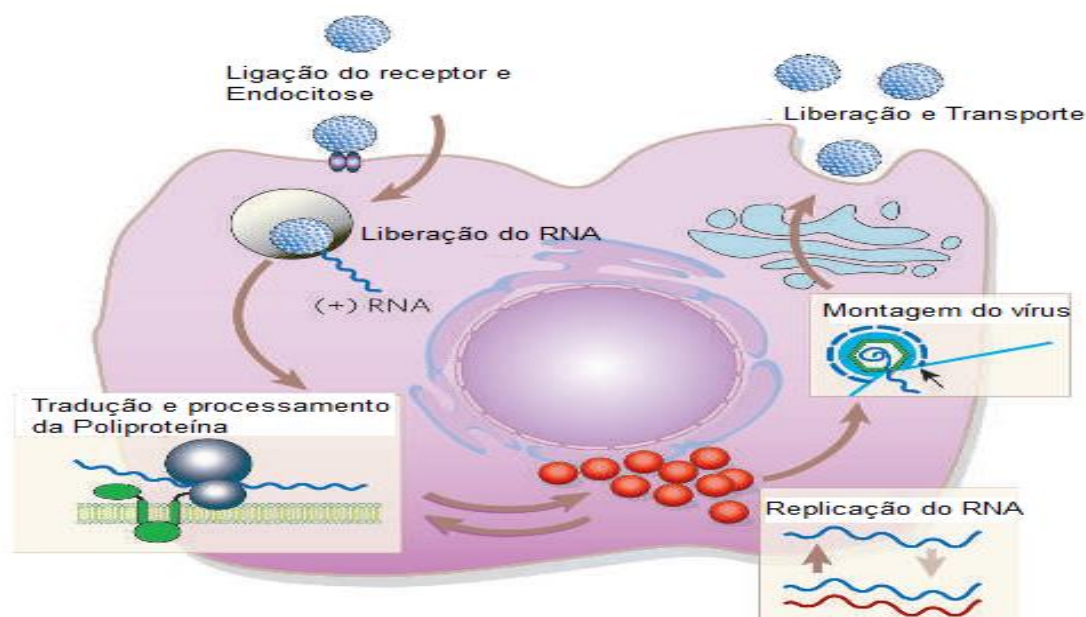


FIGURA 8. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO CICLO REPLICATIVO DO VÍRUS DA HEPATITE C
 FONTE: Adaptado de LINDENBACH *et al.*, 2005.

2.4.3 Subtipos do HCV

Existe uma grande variedade na sequência genômica do HCV (FERREIRA e SILVEIRA, 2004).

Cepas de HCV isoladas em todo o mundo foram classificadas em seis genótipos diferentes (1 a 6), cada uma compreendendo vários subtipos (a, b, c, etc) (FERREIRA e SILVEIRA, 2004; MARTINS *et al.*, 2006). Dentro de um mesmo subtipo e genótipo é possível ter variações do HCV, que são denominadas *quasispecies*. Isso ocorre devido a erros de replicação do vírus, que leva ao surgimento de pequenas e constantes mutações (STRAUSS, 2001).

Os genótipos do HCV podem ser determinados diretamente por técnicas moleculares por meio da amplificação de regiões definidas do genoma (BRANDÃO *et al.*, 2001; MARTINS *et al.*, 2006).

A determinação do genótipo é um parâmetro relevante na resposta ao tratamento antiviral uma vez que o genótipo 1 está associado a uma menor resposta virológica sustentada em comparação com os genótipos 2 e 3. Além disso, os vários genótipos apresentam distintas distribuições geográficas (MARTINS *et al.*, 2006).

Embora os genótipos 1, 2 e 3 pareçam ter uma distribuição mundial, sua prevalência relativa varia de uma área geográfica para outra. O genótipo 4 é encontrada no Oriente Médio e Norte da África, e os genótipos 5 e 6, na África do Sul e Ásia, respectivamente (MARTINS *et al.*, 2006). No Brasil, os genótipos do HCV mais frequentes são 1, 2 e 3 (FERREIRA e SILVEIRA 2004).

2.4.4 Infecção Aguda do HCV

O período de incubação da infecção do HCV é de 15 a 150 dias e normalmente a infecção aguda não se apresentam icterícia ou outros sintomas, mas podem ocorrer sintomas inespecíficos como de uma gripe leve, anorexia, mal estar e fadiga (LARSON e CARITHERS, 2001).

Por ser assintomática, é pouco provável que a vigilância para a infecção aguda pela hepatite C possa ser realizada, principalmente por não haver marcador sorológico confiável para esta fase da infecção e por ser difícil diferenciar, do ponto de vista clínico, infecção aguda de uma exacerbação de infecção crônica. Mas, a confirmação da infecção crônica pode ser investigada e confirmada por meio de exames negativos para o vírus da hepatite A, anti-HBc e teste positivo para anti-HCV. Alguns pacientes podem apresentar anti-HCV negativo no início dos sintomas e somente exames seriados vão evidenciar o diagnóstico (FERREIRA e SILVEIRA, 2004).

2.4.5 Infecção Crônica do HCV

A infecção crônica pelo HCV evolui de forma lenta, em anos ou décadas, apresenta um amplo espectro clínico, desde formas assintomáticas com enzimas hepáticas normais até a hepatite crônica ativa, cirrose e hepatocarcinoma. Argumenta-se que fatores relacionados ao vírus, como carga viral e genótipo, poderiam influenciar a evolução da hepatite crônica pelo HCV (SATRAUSS, 2001).

A progressão da lesão hepática, da hepatite crônica para cirrose, pode ainda relacionar-se a fatores do hospedeiro, ou seja, sexo, idade, uso de álcool ou concomitância com outros vírus. O mais importante dos fatores do hospedeiro, entretanto, parece ser o seu estado imunológico (STRAUSS, 2001).

A infecção pelo HCV tem sido responsável por aproximadamente 70% dos casos de hepatite crônica e 40% dos casos de cirrose. A incidência de hepatocarcinoma aumentou aproximadamente duas vezes na última década e avaliações do impacto da hepatite C estimam um aumento da cirrose, do hepatocarcinoma e da necessidade de transplante (VASCONCELOS *et al.*, 2006).

Cerca de 40% do total de pacientes curam ou evoluem para uma doença crônica de natureza benigna. Os restantes evoluem para a doença crônica com lesões necroinflamatórias discretas e fibrose mínima ou ausente. O prognóstico a longo prazo é desconhecido, mas sabe-se que, depois de 10 a 20 anos, pode ocorrer a evolução para cirrose hepática, com indicação de transplante (CONTE, 2000).

2.4.6 Tratamento do HCV

O tratamento da hepatite C objetiva deter a progressão da doença hepática pela inibição da replicação viral (STRAUSS, 2001), mas existem também outros objetivos no tratamento hepatite C que inclui primeiramente, e talvez o mais importante passo, convencer os pacientes que fazem uso de álcool ou drogas a se absterem do uso destes; o próximo objetivo é alcançar a erradicação definitiva do vírus em circulação com a terapia antiviral. Quando isto não for possível, a terapia de longa duração deve ser considerada para retardar a progressão da doença. Finalmente, o transplante de fígado deve ser considerado em pacientes com cirrose descompensada (LARSON e CARITHERS, 2001).

Pessoas com HCV com cirrose possuem risco de desenvolver doença hepática em estágio final, bem como o carcinoma hepatocelular. Em contrapartida, quase a metade das pessoas com hepatite C aguda, que se recuperam não estão

sujeitos a complicações a longo prazo e não precisam de tratamento (STRADER *et al.*, 2004)

Segundo o Ministério da Saúde, os medicamentos utilizados no tratamento do HCV são interferon α -2a recombinante, interferon α -2b recombinante, interferon peguilado α -2a, interferon peguilado α -2b e ribavirina. Esses medicamentos são indicados para pacientes que tenham realizado exames nos últimos 24 meses, com biópsia hepática onde tenha sido evidenciada atividade necro-inflamatória de moderada a intensa e/ou presença de fibrose (BRASIL, 2008a).

O uso de interferon peguilado α foi o tratamento de escolha aprovado no início de 1990 e apenas 12% dos pacientes tiveram resposta virológica sustentada. Prolongar a duração da terapia para 24 meses aumentou a taxa de resposta virológica sustentada nos pacientes. A terapia combinada com interferon e ribavirina tem mostrado de forma significativa uma melhora da resposta ao tratamento de pacientes com infecção crônica pelo HCV (LARSON e CARITHERS, 2001).

Mais recentemente, novas alternativas de tratamento com o uso de medicamentos que apresentam ação direta contra o HCV com atividade de inibidores de protease, como o boceprevir e o telaprevir estão sendo utilizados para o tratamento desta infecção com bons resultados. Ambos devem ser utilizados em associação com o interferon peguilado α e ribavirina, constituindo assim uma terapia tripla. Porém, os primeiros estudos reportam a utilização desses medicamentos para indivíduos monoinfectados pelo HCV, genótipo 1, com fibrose avançada ou cirrose hepática compensada (BRASIL, 2013). O uso desta nova terapia nos coinfectados somente foi liberado em situações específicas, tendo apresentado resultados bastante favoráveis, devendo ser avaliado os riscos e benefícios desta recomendação.

2.5 DIAGNÓSTICO DO HBV E HCV

2.5.1 Diagnóstico clínico

Os quadros clínicos agudos das hepatites virais são muito diversificados. Nos casos sintomáticos, o período de doença aguda se caracteriza pela presença de colúria, hipocolia fecal e icterícia. Mesmo não sendo específicas para nenhuma das hepatites, as aminotransferases são marcadores sensíveis de lesão do parênquima hepático e na fase aguda da doença podem elevar-se até dez vezes acima do limite dos valores de referência. Outras alterações comumente encontradas nos quadros clínicos agudos são elevação de bilirrubinas, fosfatase alcalina e discreta linfocitose (BRASIL, 2005).

As hepatites crônicas são assintomáticas na grande maioria dos casos e as manifestações clínicas aparecem em fases adiantadas, sendo que muitas vezes o diagnóstico é feito ao acaso (BRASIL, 2005).

2.5.2 Diagnóstico laboratorial

Os testes de função hepática, especialmente os níveis séricos da ALT/TGP e AST/TGO, apesar de serem indicadores sensíveis do dano do parênquima hepático, não são exclusivos para hepatites (BRASIL, 2005), havendo a necessidade de se realizar exames específicos para cada tipo de infecção.

A disponibilidade dos ensaios de diagnóstico molecular tem melhorado a compreensão das manifestações clínicas e história natural das infecções pelas hepatites além de ter facilitado a monitorização da resposta ao tratamento (CONJEEVARAM e LOK, 2003).

2.5.3 Diagnóstico laboratorial do HBV

O diagnóstico do HBV habitualmente realiza-se através de técnicas sorológicas, mas a técnica de biologia molecular vem se incorporando na rotina laboratorial permitindo o acesso às modernas técnicas capazes de avaliar a carga viral, o índice de replicação do agente infeccioso e a eficácia de novas medicações utilizadas no tratamento dessa virose (FERREIRA, 2000).

Testes sorológicos são utilizados para identificação da presença da doença tanto aguda quanto crônica. Na doença aguda detectam-se os marcadores sorológicos HBsAg, Anti-HBc IgM, Anti-HBc IgG, HBeAg, Anti-HBe e Anti-HBs. Nas infecções crônicas detectam-se os marcadores sorológicos HBsAg, HBeAg e Anti-HBe (BRASIL, 2005).

Além da detecção sorológica, existe a monitorização dos níveis séricos do DNA do HBV por meio da PCR para avaliar a atividade da doença e determinar a indicação de terapia antiviral, assim como monitorar a resposta ao tratamento (CONJEEVARAM e LOK, 2003).

Principais Padrões Sorológicos Encontrados na Infecção pelo HBV						
HBsAg	HBeAg	Anti-HBcIgM	Anti-HBcTotal	Anti-Hbe	Anti-HBs	Interpretação
+	+	+	+	-	-	HBV aguda (fase inicial)
+	-	+	+	+	-	HBV aguda (fase tardia)
+	+	-	+	-	-	HBV crônica
+	-	-	+	+	-	HBV crônica
-	-	-	+	(+)(-)	-	Janela Imunológica
-	-	+	+	(+)(-)	-	HBV aguda
-	-	-	+	(+)(-)	+	HBV pregressa, imune
-	-	-	-	-	+	Vacinação prévia
-	-	-	+	-	-	HBV pregressa ou reação cruzada

QUADRO 1. INTERPRETAÇÕES DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS NA INFECÇÃO PELO HBV.
FONTE: Adaptado de: FOCACCIA, 2007.

2.5.4 Diagnóstico laboratorial do HCV

O HCV circula no sangue em baixas concentrações (BRANDÃO *et al.*, 2001) e pode ser encontrado, também, na saliva, na urina, no sêmen e secreções vaginais (GABE e LARA, 2008). A detecção de anticorpos contra o antígeno específico do HCV é a maneira mais frequentemente empregada para identificar a infecção. Para este fim, são utilizados testes com alta sensibilidade, testes suplementares e testes com maior especificidade para confirmar a doença (BRANDÃO *et al.*, 2001).

Um exemplo de teste para rastreamento do HCV é o ensaio imunoenzimático (EIE) que tem como alvo antígenos e proteínas recombinantes do HCV, porém, possui menor especificidade em relação aos demais testes. Como teste suplementar, utiliza-se o *immunoblot* recombinante (RIBA), para descartar teste falso-positivo, que mesmo não sendo considerado um teste confirmatório para HCV possui uma especificidade maior que o EIE, pois identifica anticorpos e antígenos individuais. O padrão ouro para o diagnóstico da infecção ativa do HCV é a determinação do RNA do HCV através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), onde é possível detectar uma única molécula de RNA (BRANDÃO *et al.*, 2001; GABE e LARA, 2008).

O diagnóstico histológico revela-se importante para a tomada da decisão terapêutica, pois permite avaliar a presença e intensidade da lesão hepática, e também, fornece subsídios quanto à confirmação da etiologia da infecção pelo HCV (STRAUSS, 2001).

2.6 COINFEÇÃO DO HIV E HEPATITES VIRAIS

2.6.1 Coinfecção HIV/HBV

Estima-se que 2 a 4.000.000 de pessoas são coinfectadas com o HIV e HBV em todo o mundo. Em geral, o HBV tende a ser mais agressivo em indivíduos portadores do HIV do que em indivíduos mono infectados. Vários fatores podem

estar relacionados com a coinfeção HIV/HBV, tais como diferença geográfica, idade e o modo de exposição. Essa coinfeção segue um curso diferente em todo o mundo, por exemplo, infecção vertical e horizontal ou a infecção na infância, é mais comum na África e Ásia (RANJBAR *et al.*, 2011).

Em estudos brasileiros com amostras provenientes dos serviços de saúde, observou-se que as taxas de prevalência da coinfeção HIV/HBV está em torno de 5,3% a 24,3%, sendo que a hepatite B crônica afeta cerca de 10% dos pacientes infectados por HIV em todo mundo (PUOTI *et al.*, 2002).

Embora a recuperação da hepatite B aguda esteja associada à proteção imune ao longo da vida, pequenas quantidades de vírus podem ser detectadas pela PCR. Isto sugere que o vírus residual seja controlado por uma imunidade celular e humoral e que a viremia pode ressurgir durante uma imunossupressão, o que explica a reativação dessa hepatite em pacientes infectados com HIV. Além disso, acredita-se que a coinfeção HIV/HBV é um risco aumentado para o desenvolvimento da cirrose hepática e da morbidade relacionada (HOFFMANN e THIO, 2007; McGOVEM *et al.*, 2010a). Em contrapartida, o uso da terapia antirretroviral (TARV) está associada a soroconversão HVB devido a uma melhora na resposta imune, mesmo na ausência de terapia eficaz para HVB (HOFFMANN e THIO, 2007).

A coinfeção HIV/HBV, pode ser importante devido ao aumento da probabilidade de desenvolver hepatite B crônica e o aumento dos riscos de longo prazo (HOFFMANN e THIO, 2007).

A coinfeção afeta a evolução natural da hepatite B, podendo levar ao desenvolvimento de doença crônica depois da exposição ao HBV, bem como a menor soroconversão do antígeno “e” e elevação dos níveis de DNA do HBV. Além disso, pacientes coinfectados com HIV/HBV apresentam com maior frequência perfil sorológico atípico, elevada progressão para a fibrose hepática e maior mortalidade por doença hepática atribuída ao HBV (MACHADO *et al.*, 2006).

Estudos mais recentes sobre a progressão da fibrose sugerem que a imunossupressão está associada com o desenvolvimento de cirrose (pacientes coinfectados com menos de 200 células LT CD4⁺/mm³ são significativamente mais prováveis de serem cirróticos do que aqueles com contagens superiores de células LT CD4⁺). Além disso, a descompensação hepática é acelerada entre os pacientes coinfectados com cirrose hepática em comparação com os monoinfectados. Outro

fator que afeta a progressão para a fibrose é o genótipo de HBV. Um exemplo é o genótipo G, que tem maior influência sobre a progressão da fibrose em pacientes coinfectados por HIV/HBV (CHERUVU, MARSK e TALAL, 2007).

O objetivo do tratamento na coinfecção do HIV e HBV é a supressão do HBV, se possível, e a interrupção da progressão da fibrose hepática. Por este motivo, a maioria dos pacientes coinfectados requer terapia por período indefinido (MACHADO *et al.*, 2006).

Estudos com pacientes HIV positivos com hepatite B crônica mostraram que a coinfecção aumenta o risco de hepatotoxicidade dos medicamentos antirretrovirais. Em caso de uso de múltiplos medicamentos hepatotóxicos, especialmente na terapia para a tuberculose, observa-se um maior risco de elevações de enzimas hepáticas em pessoas coinfectadas pelo HIV/HBV (HOFFMANN e THIO, 2007).

É difícil determinar o momento mais apropriado para se iniciar a terapia num paciente coinfectado por HIV e HBV. Orienta-se iniciar o tratamento junto com a terapia para infecção do HIV. Para aqueles pacientes que não se enquadram no perfil de pacientes que receberão terapia antirretroviral para o HIV, a terapia para o HBV deve ser considerada caso haja indicação, ou seja, doença hepática ativa com ALT elevada, altos valores de DNA do HBV (100.000 cópias no HBeAg + e 10.000 cópias com HBeAg -). Pacientes com apresentação laboratorial atípica (p.ex.: ALT normal, HBV DNA elevado ou vice-versa; HBsAg indefinido – HBV oculta) devem ser submetidos à biópsia hepática pré-tratamento na ausência de contraindicações (MACHADO *et al.*, 2006).

Os medicamentos utilizados no tratamento da coinfecção por HIV e HBV são interferon (indicado para pacientes com HIV que não tenham evidências de descompensação hepática, com contagem alta de CD4, função hepática e perfil hematológico normal), lamivudina (pacientes coinfectados que necessitam do esquema de terapia antirretroviral devem ser tratados com esta dose mais alta), adefovir (pacientes em que não há indicação de tratamento antirretroviral ou nos casos de resistência à lamivudina), tenofovir (um análogo de nucleotídeo que tem potente atividade contra o HBV), emtricitabine (é um análogo de nucleosídeo semelhante à lamivudina que induz uma rápida redução nos níveis de HBV DNA), entecavir (também é outro análogo nucleosídeo específico para o HBV e não tem atividade contra o HIV) (MACHADO *et al.*, 2006). Deve-se ressaltar que a terapia antiviral para a infecção por HBV deve ser dupla, ou seja, habitualmente recomenda-

se a associação dos medicamentos tenofovir e lamivudina, em pacientes com coinfeção com HIV. Deve-se ainda acrescentar um terceiro antirretroviral que pode ser um inibidor não nucleosídeo da transcriptase reversa ou um inibidor de protease (BRASIL, 2008a).

A interrupção prematura de um análogo de nucleosídeo/nucleotídeo pode resultar em hepatite aguda. Estudos em pacientes mono-infectados pelo HBV relataram a hepatite aguda em 17% dos pacientes que pararam o uso do análogo nucleosídeo, desenvolvendo maior risco de fibrose ou cirrose. Na hepatite aguda também pode ocorrer resistência durante a continuação da terapia com análogo de nucleosídeo. A resistência deve ser suspeitada em caso de elevação inexplicável das enzimas hepáticas (HOFFMANN e THIO, 2007).

Em indivíduos coinfectados pelo HIV/HBV que não precisam de tratamento para o HIV, mas que precisam ser tratados para hepatite B crônica, a monoterapia não deve ser usada por causa do rápido desenvolvimento de resistência aos medicamentos contra o HIV (HOFFMANN e THIO, 2007).

Todas as pessoas infectadas pelo HIV devem fazer exames para os marcadores do HBV tanto para a infecção atual quanto para a infecção passada, e os pacientes que não tiveram contato prévio com o vírus devem ser vacinados. A taxa de resposta e durabilidade da vacina é menor em pacientes HIV positivos em comparação com pessoas soronegativas, e é influenciada pela contagem de LT CD4⁺ e a carga viral do HIV. Assim, em pacientes com baixas contagens de LT CD4⁺ e descontrolada replicação do HIV, o sucesso da imunização do HBV é raro. O DNA do HBV deve ser determinado antes do início do tratamento para o HBV e monitorado a cada 6 a 12 meses (CARBONERO e POVEDA, 2012).

A biópsia hepática pode fornecer informação relacionada com a toxicidade de drogas, presença de esteatose ou outras causas de doença hepática (CHERUVU et al., 2007). Em pacientes com fibrose hepática avançada, o rastreamento periódico de câncer de fígado é obrigatório, incluindo dosagem de α -fetoproteína e ultrassonografia a cada 6 meses (CARBONERO e POVEDA, 2012).

2.6.2 Coinfecção HIV/HCV

A coinfecção HIV/HCV tem se tornado um problema crescente, principalmente após o aumento da sobrevivência dos pacientes infectados pelo HIV. Decorrente dos avanços no tratamento desta infecção, relata-se em todo o mundo que esta varia desde valores muito baixos como 4% (CARVALHO, 2006) até superiores a 50% (CORVINO *et al.*, 2007). Em populações onde há uma alta prevalência de usuários de drogas injetáveis (UDI), este valor pode chegar a 80-90%. Outro problema observado nos pacientes coinfectados é o maior risco de hepatotoxicidade aos medicamentos antirretrovirais indicados para o tratamento do HIV. Além disso, observa-se que pacientes coinfectados tem menores taxas de resposta virológica sustentada, com uma maior prevalência de eventos adversos e interação de drogas (SILVA e BARONE, 2006; AMARAL *et al.*, 2007).

Estima-se que nos Estados Unidos e Europa, aproximadamente 30% dos indivíduos com HIV estejam coinfectados com o HCV. Esta alta taxa de coinfecção ocorre porque ambos os vírus apresentam similaridade em suas rotas de transmissão, principalmente no que se refere à via parenteral (CARVALHO *et al.*, 2009).

No Brasil, as taxas de prevalência da coinfecção HIV/HCV obtidas de amostras provenientes de serviços de saúde, situam-se entre 9,2% e 54,7%, variando conforme distribuição geográfica e fatores de risco para sua aquisição (MENDES-CORRÊA *et al.*, 2010, REICHE *et al.*, 2008; VOGLER *et al.*, 2004). As maiores taxas de prevalência são observadas nos estudos que incluem usuários de drogas injetáveis em sua amostra, constituindo o fator mais importante para a aquisição do HCV (BRASIL, 2008b).

Dados não publicados da Secretaria de Saúde do Estado do Paraná (SESA) reportam um total aproximado de 25.000 pacientes portadores de HIV/AIDS notificados, com taxa de prevalência no estado de 0.6%, sendo que a maioria destes pacientes encontra-se em Curitiba e região metropolitana. A presença de coinfecção HIV/HCV foi relatada em 21% dos pacientes acompanhados em um Hospital na região Noroeste do Estado (REICHE *et al.*, 2008, VOGLER *et al.*, 2004).

A prevalência da coinfeção HIV/HCV varia entre 4% a 67%, e, ao contrário do HIV e do HBV, o HCV não é facilmente transmitido por relação sexual (PAVAN *et al.*, 2003).

A coinfeção HIV/HCV está relacionada com os maiores valores de HCV-RNA, os quais aumentam progressivamente ao longo do tempo, em comparação com a monoinfecção por HCV. Além disso, a carga viral do HCV é inversamente proporcional à contagem de LT CD4⁺ (McGOVEM, 2010b). Alguns estudos tem sugerido que a replicação do HCV em células mononucleares do sangue periférico é mais frequente nos indivíduos coinfectados, quando comparados com os monoinfectados. Este mecanismo pode estar relacionado com as taxas mais frequentes de recaídas com viremia de HCV nos pacientes com HIV após a interrupção do tratamento (BLACKARD *et al.*, 2005; LASKUS, RADKOWSKI e PIASEK, 2000).

Outros fatores que podem acelerar o processo da doença em coinfeção HIV/HCV são o uso de álcool, idade, sexo e raça. Além disso, a presença de outros problemas metabólicos, tal como a esteatose, que podem ser relacionados com a terapia antirretroviral pioram o processo de lesão hepática (BENHAMOU, BOCHET e MARTINO, 1999; McGOVEM, 2010b). Apesar de todos esses cofatores, a imunossupressão induzida pelo HIV tem um efeito independente sobre a progressão da fibrose (KLENERMAN e KIM, 2007).

O maior risco de infecção crônica por HCV e os maiores valores de RNA do HCV visto entre pacientes infectados com HIV são relacionados com uma diminuição na resposta de LT CD4⁺ e CD8⁺ à infecção por HCV. Postula-se que a resposta do vírus às células T específicas desempenham um papel no controle do vírus durante a infecção crônica pelo HCV, e a perda quantitativa de linfócitos que ocorre na infecção do HIV poderia ser responsável pelos níveis elevados de RNA de HCV observada em pacientes coinfectados (HERNANDEZ e SHERMAN, 2011).

A história natural do HCV parece ser negativamente afetada pela coinfeção com o HIV, pois estudos mostram que esta associação acarreta uma progressão mais rápida da fibrose, descompensação da doença hepática e maiores taxas de morbi-mortalidade, o que parece estar relacionada à baixa imunidade apresentada por estes indivíduos (McGOVEM, 2010b). Somado a isso, encontram-se uma maior progressão para a cirrose nestes pacientes do que em pacientes com apenas HCV. Além dessas consequências, dados dos Estados Unidos e da Europa sugerem que

o carcinoma hepatocelular (HCC) ocorre em uma idade mais jovem e está associado a menor sobrevida nesses pacientes (FREITAS *et al.*, 2008; MMWR 1999).

A biópsia hepática é o padrão ouro para o estadiamento da doença no fígado, mas sua natureza invasiva, graves complicações, erro de amostragem e heterogeneidade inerente levaram à necessidade de métodos menos invasivos, entre estes o exame de elastografia e biomarcadores sorológicos. A elastografia é usada para avaliar a elasticidade do tecido hepático, podendo avaliar graus de fibrose e cirrose com precisão, além de ser útil em pacientes com valores de transaminases normais. Marcadores sorológicos correlacionados com estágio de fibrose hepática podem ser classificados em três grupos tais como testes de função hepática, avaliação dos marcadores do metabolismo da matriz extracelular e aferição dos índices de combinação de marcadores de ambos os tipos. Outras tecnologias não invasivas promissoras incluem análise de DNA para identificar novos biomarcadores para avaliação da fibrose e a ressonância magnética para identificar a esteatose e prever fatores metabólicos associados a ela (OPERSKALSKI e KOVACS, 2011).

O início precoce da terapia antirretroviral (TARV) nos indivíduos coinfectados HIV/HCV tem sido sugerido pelos comitês de diretrizes de tratamento do HIV, pois esta terapia pode retardar a progressão da hepatite devido à reconstituição imune (McGOVEM, 2010b).

O momento do início da terapia antiviral em relação ao tratamento para o HCV em pacientes coinfectados pode ser um desafio para os médicos (OPERSKALSKI e KOVACS, 2011). Atualmente recomenda-se o início da terapia anti-hepatite para os pacientes coinfectados que não estejam em falha terapêutica do HIV, estáveis clinicamente (ausência de infecção ativa ou oportunista nos últimos seis meses) e imunologicamente (LT CD4⁺ maior que 200 células/mm³) e com presença de qualquer grau de fibrose, independente do genótipo (ACRAS *et al.*, 2004; ALVES *et al.*, 2008; PEDROSO *et al.*, 2008).

A terapia antirretroviral altamente ativa, empregada nos últimos anos, tem proporcionado melhora da sobrevida dos pacientes infectados pelo HIV. Por outro lado, há um alto risco de hepatotoxicidade em indivíduos coinfectados com o HCV (CARVALHO *et al.*, 2009; SILVA e BARONE, 2006). Estudos recentes mostram que o HCV acelera a progressão da doença pelo HIV e pode retardar a reconstituição imunológica dos indivíduos infectados pelo HIV após o uso da TARV. Portanto, de

acordo com o *United States Public Health Service* (USPHS) e a *Infectious Diseases Society of America* (IDSA), a hepatite C é considerada uma doença oportunista nas pessoas infectadas pelo HIV, isso devido à sua incidência aumentada nessa população de pacientes e, também, pelo seu curso natural acelerado na coinfeção (SILVA e BARONE, 2006).

O interferon peguilado e a ribavirina (pegIFN + RBV) são o tratamento padrão para o HCV tanto em monoinfectados quanto em coinfectados. Recomenda-se um curso fixo de 48 semanas, para otimizar o tratamento do HCV em pacientes coinfectados (OPERSKALSKI e KOVACS, 2011) realizando exames de carga viral em intervalos específicos para avaliar a resposta à terapia.

Com relação à resposta ao tratamento da infecção pelo HCV, esta pode ser classificada como: 1) resposta virológica rápida, definida como a carga viral do HCV abaixo do nível de detecção 4 semanas após o início do tratamento, 2) resposta viral precoce, definida como a carga HCV indetectável ou uma queda de 2 log a partir da linha de base após 12 semanas de terapia de iniciação e 3) resposta virológica sustentada, definida como a carga viral do HCV não detectável 24 semanas após a terapia. O RNA do HCV não detectáveis na semana 4 é o melhor preditor de resposta virológica sustentada em pacientes coinfectados (OPERSKALSKI e KOVACS, 2011).

Existe interesse nas respostas imunológicas em longo prazo. Uma razão para isto é que o interferon e ribavirina são imunomoduladores e, portanto, parece plausível que estes poderiam contribuir para o efeito do tratamento, especialmente uma vez que o efeito antiviral direto da ribavirina é mínimo (KLENERMAN e KIM, 2007).

São escassas as informações sobre o início e a duração da terapia em pacientes coinfectados por HIV e HCV, incluindo as fases do HCV, o genótipo do HCV, o grau de fibrose hepática e adesão do paciente ao tratamento. Estes fatores têm importância clínica porque influenciam na segurança, tolerabilidade e sucesso na terapia desta coinfeção (OPERSKALSKI e KOVACS, 2011).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Casuística

3.1.1 Tipo de estudo

Foi realizado um estudo observacional, transversal, no qual foram avaliados pacientes que fizeram a investigação laboratorial para detecção de infecção por HIV, HBV e HCV, atendidos nos ambulatorios de referência do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

3.1.2 Seleção dos pacientes

Foram incluídos na pesquisa, os pacientes que tiveram diagnóstico confirmado de HCV/HIV, HBV/HIV e HCV/HBV/HIV. Foram excluídos os casos não confirmados de HIV, HBV e HCV.

Para a obtenção do número aproximado de pacientes coinfectados atendidos nos ambulatorios do HC-UFPR foi feito o cruzamento de bancos de dados para encontrar os pacientes em comum com notificação para HIV-1 e hepatites virais que foram cedidos pelos serviços de Epidemiologia, Farmácia e o laboratório de Virologia do hospital com os seguintes números:

- 1407 pacientes com diagnóstico de HIV positivo com entrada no serviço de Virologia com pedido de exame para carga viral no período de janeiro de 2011 a agosto de 2012;
- 1479 pacientes com diagnóstico de HIV positivo com cadastrado no serviço de Farmácia do hospital e que foram notificados no Ministério da Saúde pelo Departamento Nacional de DST/AIDS;

- 3273 pacientes com diagnóstico de HIV positivo notificados pelo serviço de Epidemiologia do HC-UFPR no período de 1988 a 2011;
- 2436 pacientes com diagnóstico positivo para hepatites virais e que foram notificados pelo serviço de Epidemiologia do HC-UFPR no período de 2001 a 2011.

Feito esse cruzamento dos bancos de dados, as informações foram atualizadas para encontrar pacientes em comum (tanto no banco das hepatites quanto no banco do HIV). Foram excluídos os óbitos e os prontuários inativos, identificando 177 prontuários ativos no sistema do hospital. Porém, ao revisar os prontuários, 93 pacientes foram identificados. Os demais pacientes haviam perdido o acompanhamento no HC-UFPR. A figura 9 mostra o esquema da obtenção do número de pacientes portadores do HIV-1 que fizeram, em algum momento, a investigação para as hepatites B e C.

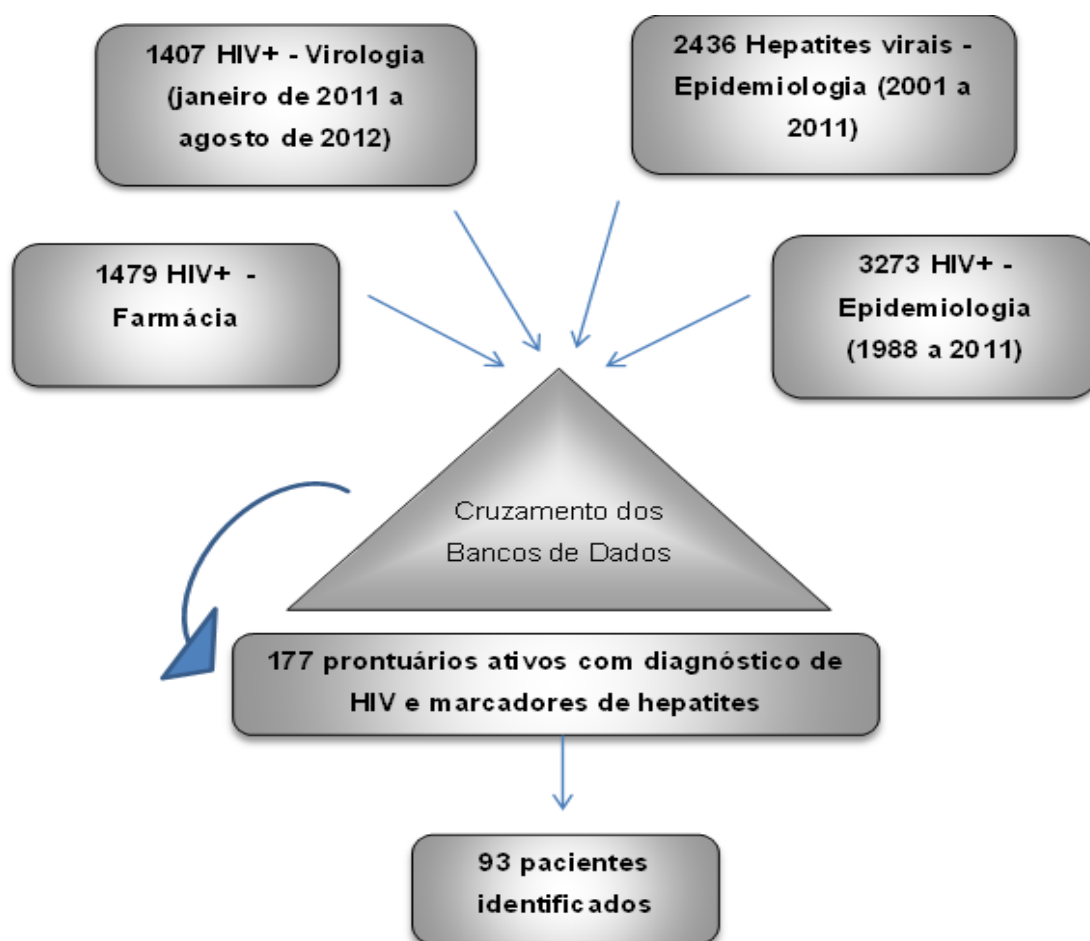


FIGURA 9. ESQUEMA DE OBTENÇÃO DO NÚMERO DE PACIENTES COINFECTADOS
FONTE: O autor, 2014.

Com a identificação desses pacientes foi feita a busca dos prontuários para coleta de dados e a busca ativa nos ambulatorios pelo do acompanhamento da agenda individual no período de março de 2011 a março de 2013.

Os pacientes foram abordados no ambulatório, durante a consulta com o médico infectologista, e convidados a participar da pesquisa respondendo a um questionário e, posteriormente, fazer uma coleta de sangue mediante assinatura do TCLE.

Na consulta aos prontuário foram analisadas variáveis como dados demográficos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais iniciais e evolutivos dos pacientes que incluem: número de identificação; sexo; data de nascimento; raça; naturalidade; procedência; escolaridade; uso de drogas; comportamento sexual; número de parceiros; tatuagens; *piercing*; recebimento de transfusão sanguínea antes do diagnóstico; abuso de álcool; Anti-HCV + (1ª data); PCR para HCV + (data); genótipo; HBsAg; anti-HBc; anti-HBs; biópsias/datas e número; resultado da biópsia; fibrose; esteatose; siderose; cirrose; tratamento; IFN convencional; IFN alfa; IFN peguado; resposta virológica sustentada (RVS); HIV1 + (primeiro teste); carga viral do HIV (primeira data); subtipo do HIV-1; quantificação de LT CD4⁺; tratamento antirretroviral (apêndice 1). Para evitar identificação dos pacientes, os nomes não foram registrados.

Após a abordagem para entrevista e esclarecimento da pesquisa, o paciente foi convidado para fazer uma coleta de sangue e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). (apêndice 2).

A coleta de sangue foi realizada em 49 pacientes utilizando 2 tubos de 9mL com anticoagulante Ácido Cítrico em Dextrose (ACD) para cada paciente e as amostras foram levadas imediatamente ao laboratório de virologia do HC-UFPR para serem processadas e submetidas aos testes.

Os procedimentos que envolveram a busca de dados clínico-epidemiológicos em prontuários e coleta de amostras clínicas foram aprovados do Comitê de Ética em pesquisa do HC-UFPR, sob o registro: CAAE: 0222.0.208.000-10 (anexo 1).

3.2 Métodos

3.2.1 Obtenção do concentrado de leucócitos (*buffy coat*)

As amostras de sangue, coletadas em frascos com o anticoagulante ACD, foram inicialmente centrifugadas, seguidas da separação do plasma e posteriormente processadas para obtenção do concentrado de leucócitos monomorfonucleares (concentrado de leucócitos - *buffy coat*). Para esse fim, utilizou-se o reagente HISTOPAC®-1077 (fabricante) que consiste de uma solução de polissacarose e diatrizoato de sódio, seguindo as informações do fabricante para o processamento da amostra clínica.

Após processar as amostras, os leucócitos (*buffy coat*) foram contados em contador hematológico automatizado, o número de células foi corrigido, quando necessário, para obter uma concentração de 10^6 células/mL, e em seguida, a amostra foi aliquoteada e estocada a -80°C até a extração do DNA proviral.

3.2.2 Extração do DNA proviral do HIV-1

A extração do DNA proviral foi realizada a partir de 200 μL do concentrado de leucócitos (10^6 células/mL), com a utilização de reagentes comerciais como o Kit QIAmp DNA Blood (Quiagen, Inc) seguindo as especificações do fabricante.

Após a extração, as amostras o DNA extraído foram quantificadas utilizando espectrofotômetro NanoDrop® ND-1000 (fabricante).

3.2.3 Amplificação do material genético por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR)

3.2.3.1 PCR para o gene da β -globina humana

Depois da extração do material genético, foi realizada a PCR para amplificação do gene da β -globina humana. Esta reação teve como objetivo avaliar um controle interno de extração, além de indicar se existe algum inibidor de PCR na amostra, evitando resultados falso-negativos.

Para a amplificação do gene da β -globina utilizaram-se os oligonucleotídeos iniciadores GH20 (5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3) e PC04 (5'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-3) (DEMATHE *et al.*, 2010). A reação de PCR para amplificação desse gene foi realizada utilizando:

- 5 μ L do DNA extraído;
- 1 μ L (10 μ M) de cada um dos iniciadores: GH20 e PC04;
- 45 μ L de Platinum® Blue PCR SuperMix - Invitrogen (contendo 1U *Taq* DNA polimerase Platinum®).

A PCR foi realizada em termociclador com as seguintes condições de termociclagem:

- Desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos;
- 40 ciclos de:
- Desnaturação a 94°C por 1 minuto;
 - Hibridização dos iniciadores a 55°C por 1 minuto;
 - Extensão a 72°C por 2 minutos;

Hold a 72°C por 8 minutos

∞ 4°C

Após a amplificação, 10 μ L do material foi aplicado em um gel de agarose 1% corado com brometo de etídio e a presença de um produto de 268pb confirmou que o DNA foi realmente extraído.

3.2.3.2 Amplificação do material genético do HIV-1

Para subtipar o HIV a partir do material genético extraído, a estratégia foi amplificar duas regiões do genoma, uma que codifica a proteína estrutural (*gag*) e uma proteína não estrutural (*vpu*) (FIGURA 10).

Para isso, foi realizada a técnica de *nested* PCR utilizando os iniciadores (*primers*) descritos no quadro 2:

FRAGMENTO		SEQUÊNCIA (5' – 3')	POSIÇÃO HXB2
GAG	P170	TCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGAC	626 → 653
	P174	TCTATCCCATTCTGCAGCTTCCTCATTGAT	1431 → 1402
	P171	TTTGACTAGCGGAGGCTAGA	761 → 780
	P173	GGTGATATGGCCTGATGTACCATTGCCCCCTG	1275 → 1204
VPU	Polseq 2	CGGGTTTATTACAGGGACAGC	4899 → 4919
	TUE-3	TCCTTCTGCTAGACTGCCATTTA	7028 → 7006
	ACC7	CTATGGCAGGAAGAAGCGGAGA	5968 → 5989
	ZM140E	GGGGTCAACTTTACACATGGCTTT	6595 → 6572

QUADRO 2. INICIADORES UTILIZADOS NA AMPLIFICAÇÃO DOS FRAGMENTOS DOS GENES GAG E VPU-ENV DO HIV-1.

FONTE: RUCHANSKY et al., 2009.

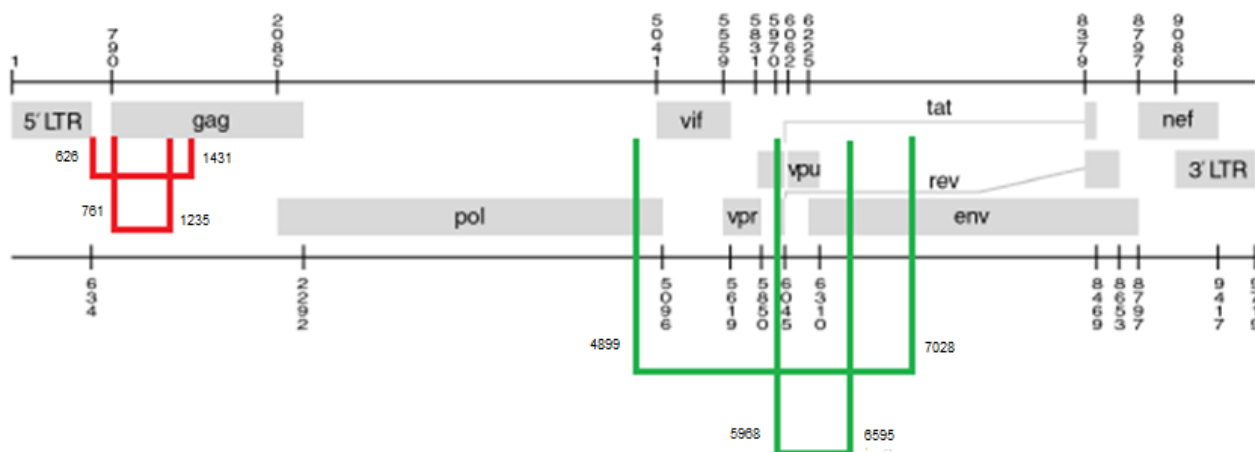


FIGURA 10. ESQUEMA DO GENOMA DO HIV-1 COM AS REGIÕES ESTUDADAS

FONTE: Adaptado de Los Alamos HIV.

NOTA: (—) Posições para o gene *gag* com base no HXB2; (—) Posições para o gene *vpu* com base no HXB2.

3.2.3.3 PCR para o gene *gag*

Para a reação em cadeia da polimerase (PCR) que amplificam o gene *gag* foi amplificada a proteína p17 do HIV-1, utilizando o seguinte protocolo:

1ª PCR:

- 5µL do DNA extraído;
- 1µL (10µM) de cada um dos iniciadores (P171 e P174), que amplificam uma região mais externa à região alvo;
- 45µl de Platinum® Blue PCR SuperMix – Invitrogen (contendo 1U *Taq* DNA polimerase Platinum®).

A PCR foi realizada em termociclador com as seguintes condições de termociclagem:

- Desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos;
 - Desnaturação a 94°C por 30 segundos;
 - Hibridização dos iniciadores a 55°C por 30 segundos;
 - Extensão a 72°C por 2 minutos;
 - ∞ 4°C
- } 35 ciclos

2ª PCR:

- 3µL do produto da primeira PCR.
- 1µL (10 µM) de cada um dos iniciadores (P171 e P173), que amplificam uma região mais interna do genoma viral amplificado na primeira PCR.
- 45µl de Platinum® Blue PCR SuperMix – Invitrogen (contendo 1U *Taq* DNA polimerase Platinum®).

Nesta etapa utilizaram-se as mesmas condições de temperatura da PCR 1 para a termociclagem.

3.2.3.4 PCR para o gene *vpu-env*

Para a reação em cadeia da polimerase (PCR) que amplificam o gene *vpu* e o fragmento *vpu-env* da proteína p16 do HIV-1 foi utilizado o seguinte protocolo:

1ª PCR:

- 5µL do DNA extraído;
- 1µL (10 µM) de cada um dos iniciadores (Polseq 2 e TUE-3), que amplificam uma região mais externa à região alvo;
- 45µl de Platinum® Blue PCR SuperMix – Invitrogen (contendo 1U *Taq* DNA polimerase Platinum®).

A PCR foi realizada em termociclador com as seguintes condições de termociclagem:

- Desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos;
 - Desnaturação a 94°C por 30 segundos;
 - Hibridização dos iniciadores a 55°C por 30 segundos;
 - Extensão a 72°C por 2 minutos;
- ∞ 4°C
- } 35 ciclos

2ª PCR:

- 3µL do produto da primeira PCR.
- 1µL (10 µM) de cada um dos iniciadores (ACC7 e ZM140E), que amplificam uma região mais interna do genoma viral amplificado na primeira PCR.
- 45µl de Platinum® Blue PCR SuperMix - Invitrogen (contendo 1U *Taq* DNA polimerase Platinum®).

Nesta etapa utilizaram-se as mesmas condições de temperatura da PCR 1 para a termociclagem.

Quando não ocorreu a amplificação do gene em questão, a PCR foi repetida utilizando uma amplificação inicial com 5 ciclos, seguida de uma segunda amplificação com 35 ciclos.

5 ciclos:

- 94°C por 1 minuto;
 - 37°C por 1 minuto;
 - 72°C por 1 minuto;
-
- Desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos;
 - Desnaturação a 94°C por 30 segundos;
 - Hibridização dos iniciadores a 55°C por 30 segundos;
 - Extensão a 72°C por 2 minutos;
- ∞ 4°C
- } 35 ciclos

Após a realização da amplificação, 10µL do material foi aplicado em um gel de agarose 1% corado com brometo de etídio (1µg/ml) e o produto de 474pb para o gene *gag* e 627pb para o gene *vpu-env* foram observados nas amostras amplificadas. Estes foram purificados e utilizados na reação de sequenciamento nucleotídico.

3.2.3.5 Purificação do produto de PCR

O produto da PCR obtido foi purificado utilizando-se o AccuPrep® PCR Purification Kit – BIONNER (fabricante), obedecendo às especificações do fabricante. Essa etapa é necessária para remoção de excesso de dNTP e iniciadores, além de permitir mensurar a quantidade de DNA que foi purificado e também, avaliar a qualidade da purificação. A quantificação foi realizada em espectrofotômetro NanoDrop® ND-1000 (fabricante) e uma concentração final de 20 ng de DNA foi usada para o sequenciamento nucleotídico viral.

3.2.3.6 Reação de Sequenciamento Nucleotídico

A reação de marcação fluorescente foi realizada em microplaca de 96 poços, utilizando o Kit Big Dye (kit ABI Prisms™) (fabricante), segundo especificações do fabricante. Para isso foram feitas duas reações para cada amostra, utilizando os primers P171e P173 para a região do gene *gag* e ACC7 e ZM140E para a região de gene *vpu-env* com as seguintes condições de termociclagem:

Para o gene *gag*:

- Desnaturação inicial a 96°C por 1 minuto;
 - Desnaturação a 96°C por 15 segundos;
 - Hibridização dos iniciadores a 50°C por 15 segundos;
 - Extensão a 60°C por 4 minutos.
- } 35 ciclos

Para o gene *gag* e *vpu-env*:

- Desnaturação inicial a 96°C por 1 minuto;
 - Desnaturação a 96°C por 15 segundos;
 - Hibridização dos iniciadores a 55°C por 15 segundos;
 - Extensão a 60°C por 4 minutos.
- } 35 ciclos

O produto da reação de marcação fluorescente foi então precipitado e lavado utilizando-se uma solução de NaOCa (Acetato de sódio) e etanol. Descartou-se o sobrenadante e o sedimento desnaturado foi solubilizado com 10 µL de formamida HiDi (Applied Biosystems Inc., CA). O DNA foi desnaturado a 96°C por cinco minutos e as amostras mantidas em gelo até o processo de sequenciamento nucleotídico conduzido no equipamento ABI3100 (Applied Biosystems).

A sequência consenso foi submetida a análise de subtipagem utilizando-se a ferramenta “genotyping” disponível *on line* pelo *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.cgi>), REGA HIV-1 Subtyping Tool - Version 2.0 (<http://dbpartners.stanford.edu/RegaSubtyping/>) e Los Alamos – HIV databases (<http://www.hiv.lanl.gov/content/index>).

3.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram digitados em planilha Excel, compilados utilizando o software JMP versão 5.2.1 e analisados com o *software* GraphPad Prism versão 5.03. Testes de Qui-quadrado ou exato de Fisher foram utilizados para analisar as diferenças entre os grupos e teste de Mann Whitney para as variáveis contínuas, quando apropriados. A análise multivariada utilizando a técnica de regressão logística foi aplicada a todas as variáveis estatisticamente significativas encontradas na análise univariada. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

3.4 Financiamento

O presente estudo foi apresentado e selecionado na Chamada de Projetos 08/2010, Pesquisa para o SUS: Gestão Compartilhada em Saúde -PPSUS – 2008/2009 – Segunda Edição, financiado pela Fundação Araucária/SESA-PR/MS/CNPq (Convênio nº 522/2010), sendo que os recursos para a realização das

análises foram disponibilizados pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PRPPG) desta Universidade.

4. RESULTADOS

4.1 Características demográficas, epidemiológicas e clínicas dos pacientes incluídos no estudo.

As amostras analisadas neste estudo foram provenientes de pacientes portadores de HIV-1 que realizaram investigação para as hepatites do tipo B e/ou C atendidos nos ambulatorios de referência do HC-UFPR. De março de 2011 até março de 2013 foram incluídos na pesquisa 93 prontuários médicos dos pacientes atendidos neste serviço.

Na figura 11 abaixo é possível visualizar a distribuição dos pacientes HIV⁺-1 que fizeram investigação para as hepatites B ou C de acordo com o gênero.

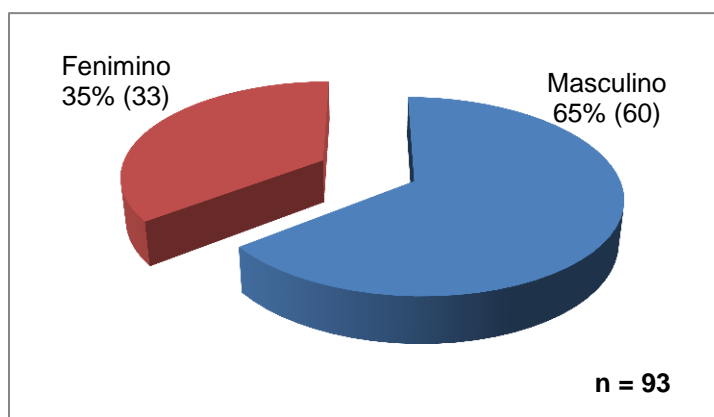


FIGURA 11. DISTRIBUIÇÃO POR GÊNERO DOS PACIENTES HIV-1 COINFECTADOS COM HBV OU HCV.

FONTE: O autor, 2014.

A mediana de idade entre os pacientes incluídos na pesquisa é de 45 anos com intervalo interquartil (IQR) de 40 e 52 anos, sendo que, se separados por sexo, a mediana dos pacientes do sexo feminino é de 44 anos (IQR 38-50,5) e do masculino é de 46,5 anos (IQR 41,2-52).

Observou-se que 38% (36/93) desses pacientes são procedentes da cidade de Curitiba, sendo que os demais casos foram encaminhados de cidades da região metropolitana, demais cidades do Paraná e de outros estados do Brasil.

A tabela 1 mostra dados coletados correspondentes ao grau de escolaridade e a raça dos pacientes. Deve-se ressaltar que este é o perfil comum da população atendida neste serviço.

TABELA 1. DISTRIBUIÇÃO DA RAÇA E ESCOLARIDADE DOS PACIENTES HIV-1 QUE INVESTIGARAM AS HEPATITES B OU C.

Categoria		Quantidade (%)
Raça	Branco	57 (61)
	Negro	4 (4)
	Pardo	17 (18)
	Amarelo	1 (1)
	Indígena	
	SI	14 (15)
Tempo de estudo	1 a 3 anos	7 (7)
	4 a 7 anos	29 (31)
	8 a 11 anos	23 (25)
	≥ 12 anos	12 (13)
	SI	22 (22)

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: SI= Sem Informação

Outro ponto analisado foi quanto ao comportamento de risco para infecção pelos vírus HIV, HBV e HCV. Dos 93 pacientes entrevistados, a maioria, 50 (53,8%) indivíduos, afirmaram ter feito uso de drogas (cocaína, maconha, crack, cola, *ecstasy* e LSD - dietilamida do ácido lisérgico) por via endovenosa (EV) ou por associação entre EV e outras vias como inaladas e aspiradas. Alguns pacientes relataram não fazer uso de nenhum tipo de droga, correspondendo a 31 pacientes (33,3%). Dos 12 (13,3%) pacientes restantes não foi obtida nenhuma informação nem por meio de entrevista nem por meio de revisão de prontuários como mostra a figura 12.

Entre os pacientes usuários de drogas, 28 (30%) relataram já ter feito ou ainda fazer o uso de drogas injetáveis (UDI) (figura 12).

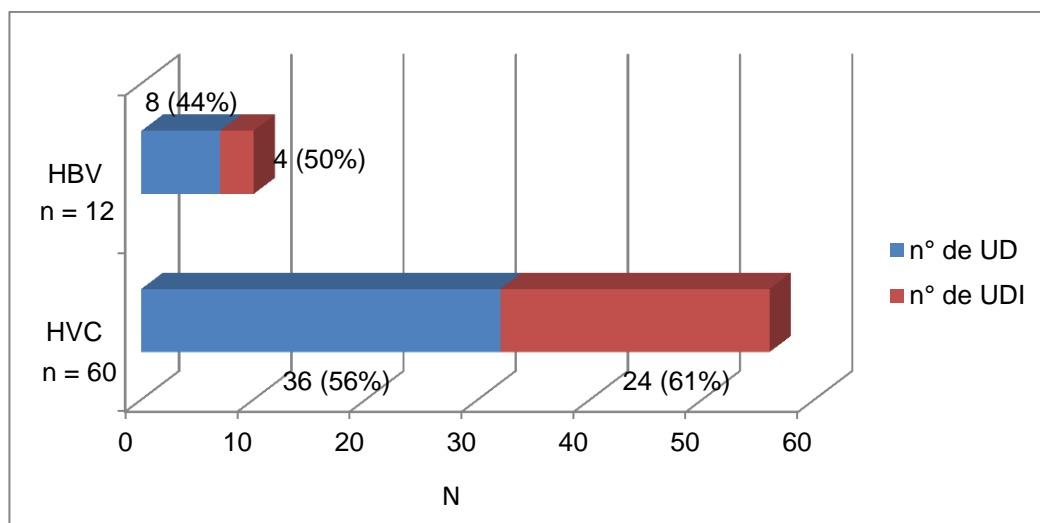


FIGURA 12. DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES USUÁRIOS DE DROGAS INJETÁVEIS (UDI) POR TIPO DE COINFECÇÃO HIV-1/HBV OU HIV-1/HCV.

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: UD: usuário de droga; UDI: usuário de droga injetável.

Com relação ao comportamento sexual relatado pelos pacientes, a maioria deles se classificou como heterossexual e com o número de parceiro igual ou inferior a dois no período de um ano (tabela 2).

TABELA 2. DADOS SOBRE O COMPORTAMENTO SEXUAL DOS PACIENTES HIV COINFECTADOS COM E HEPATITES B E/OU C.

Variável	Quantidade (%)	
Atividade Sexual	Heterossexual	62 (66)
	Homossexual	6 (6)
	Bissexual	6 (6)
	SI	19 (20)
Número de Parceiros	1 a 2/ano	50 (53)
	2 a 5/ano	7 (7)
	≥ 5	12 (12)
	SI	24 (25)

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: SI= Sem Informação

Outros fatores foram investigados nos 93 pacientes, como a realização de procedimentos como tatuagens, colocação de *piercing* e transfusão sanguínea (tabela 3).

TABELA 3. OUTROS FATORES INVESTIGADOS EM PACIENTES HIV-1 COM INVESTIGAÇÃO DE HEPATITES B OU C.

		Quantidade (%)
Uso de <i>piercing</i>	Sim	63 (67)
	Não	5 (5)
	SI	25 (27)
Tatuagens	Sim	34 (36)
	Não	35 (37)
	SI	24 (25)
Transfusão sanguínea	Sim	54 (58)
	Não	16 (17)
	SI	23 (25)

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: SI= Sem Informação

Quando perguntado em relação ao uso de álcool, 45% (42) dos pacientes afirmaram fazer ou já ter feito uso de álcool.

Ao analisar o histórico dos pacientes referente à infecção pelo HIV-1, observou-se que, no momento desta avaliação, apresentavam uma mediana de tempo de diagnóstico do HIV de 11 anos (IQR 7-15 anos), 62 (67%) pacientes tinham carga viral do HIV indetectável, mas quando detectável esta apresentava mediana de 5342 cópias/mL (IQR de 181 a 32400).

Referente a quantificação dos linfócitos T CD4⁺, no momento da avaliação, a mediana foi de 406 células/mm³ (IQR 275 a 566), isso demonstra o grau de melhora da doença desses pacientes, provavelmente, decorrente do uso da terapia antirretroviral, pois o valor da mediana de LT CD4⁺ nadir correspondia a 143 células/mm³ (IQR 264 a 164).

Dos 93 pacientes, 83 (89,3%) faziam uso de terapia antirretroviral para o HIV utilizando associação de medicamentos. Figura (13).

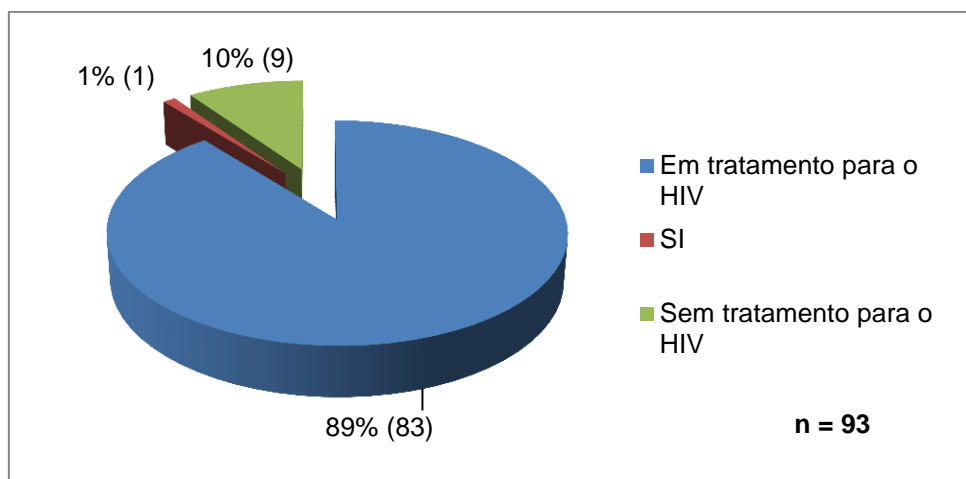


FIGURA 13. DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES HIV-1+ COM INVESTIGAÇÃO PARA HBV OU HCV EM USO DE TERAPIA ANTIRRETROVIRAL.

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: SI = Sem informação.

4.2 Coinfecção HIV/HBV e HIV/HCV

Um dos principais pontos analisados e utilizados como critério de inclusão foi a prevalência de coinfecção por HBV ou HCV nos pacientes HIV-1 positivo. Para isso foi feito um levantamento dos exames realizados pelos pacientes, onde foi avaliada a presença de marcadores sorológicos tanto para hepatite B (HBV) quanto para hepatite C (HCV) (figura 14).

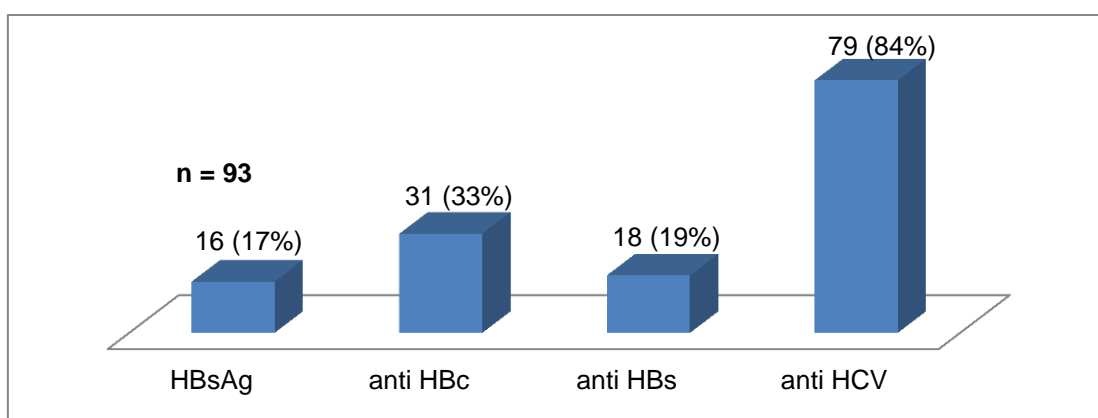


FIGURA 14. DISTRIBUIÇÃO DOS MARCADORES SOROLÓGICOS PARA HBV E HCV REALIZADOS NOS PACIENTES HIV-1.

FONTE: O autor, 2014.

Com isso, foi possível distinguir os pacientes que fizeram investigação do HBV e HCV entre os portadores de HIV. Porém, mesmo com 93 (6,6%) pacientes

apresentando algum marcador para HBV ou HCV, nem todos os pacientes são coinfectados, pois alguns indivíduos possuem perfil sorológico compatível com a cura ou apenas o anti-HBc total positivo, ou não tiveram o diagnóstico de HCV confirmado por PCR qualitativo. Do total de indivíduos investigados, em 1,3% (18/1.400) dos pacientes foi confirmada a coinfecção do HIV e HBV, e em 4% (57/1.400) a coinfecção HIV e HCV.

Os distintos perfis demográficos e epidemiológicos apresentados pelos pacientes coinfectados pelos vírus HBV ou HCV, bem como dados laboratoriais referentes ao tratamento, estão representados na tabela 4.

TABELA 4. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, EPIDEMIOLÓGICAS E LABORATORIAIS DOS PACIENTES COINFECTADOS POR HIV-1 E HEPATITES B OU C ACOMPANHADOS NO HC-UFPR

Características	HIV/HBV N=18 (%)	HIV/HCV N=57 (%)	Valor de p
Gênero			
Masculino	16 (89)	35 (61,5)	0.041
Feminino	2 (11)	22 (38,5)	
Idade (mediana em anos)	41	47	0.049
VIQ 25-75	(37,7 – 51,5)	(42 – 53)	
Raça			0.884
Branco	12 (66,5)	32 (56)	
Pardo	3 (17)	13 (23)	
Negro	1 (5,5)	2 (3,5)	
Amarelo	-	1 (1,5)	
SI	2 (11)	9 (16)	
Anos de estudo			0.393
1-3 anos	1 (5)	5 (9)	
4-7 anos	4 (22)	18 (31,5)	
8-11 anos	3 (17)	17 (30)	
12 anos ou mais	3 (17)	6 (10,5)	
SI	7 (39)	11 (19)	
Comportamento sexual			0.0016
Heterossexual	5 (28)	42 (73,5)	
Bissexual	3 (17)	2 (3,5)	
Homossexual	4 (22)	2 (3,5)	
SI	6 (33)	11 (19,5)	
Número de parceiros			0.054
<2/ano	5 (28)	34 (59,5)	
2-5/ano	3 (16,5)	2 (3,5)	
>5/ano	3 (16,5)	8 (14)	
SI	7 (39)	13 (23)	
Uso de drogas			0.488
Sim	8 (44,5)	36 (56)	
EV	4 (50)	24 (61,5)	
Outra	4 (50)	12 (38,5)	
Não	6 (33,3)	17 (30)	
SI	4 (22,2)	8 (14)	
Tempo de diagnóstico de hepatite viral (mediana em anos) VIQ 25-75	6 (4,5 – 7)	7 (5 – 9,5)	0.030
Tratamento para hepatite			Não aplicável
Sim	16 (89)	28 (49)	
RVS	-	9 (32)	
Resposta nula	4 (25)	16 (57)	
Recidiva	-	1 (3,5)	
Interrompido	2 (12,5)	2 (7)	
Inadequado	3 (18,7)	-	
SI	7 (43,7)	-	
Não	2 (11)	29 (51)	
Tempo de diagnóstico de HIV (mediana em anos) VIQ 25-75	12 (4,7 – 15)	11 (8 – 14)	0.676

Características	HIV/HBV N = 18 (%)	HIV/HCV N=57 (%)	Continuação Valor de p
Última carga viral para HIV registrada (cópias/ml)			0.150
Detectável	3 (17)	21 (37)	
Mediana (VIQ 25-75)	18.446 (1.620 – 38.436)	668 (171 – 37.480)	
Indetectável	15 (83)	36 (53)	
Contagem de LTCD4+ em células/mm³ (mediana e VIQ 25-75)			
Nadir	164 (42,7 – 274,7)	139 (75 – 265,5)	0.995
Atual (último exame realizado)	465,5 (318 – 749,3)	288 (270,5 – 531)	0.155
Uso de TARV			0.141
Sim	16 (89)	56 (98)	
Não	2 (11)	1 (2)	

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: SI = sem informação. VIQ = variação interquartil.

4.3 Coinfecção HIV/HBV

Entre os 93 pacientes estudados, 88 (94%) pacientes foram investigados para o HBV sendo possível verificar 18 (20%) de pacientes com infecção crônica assim como a quantidade de pacientes que evoluíram para a recuperação (cura) do HBV (figura 15).

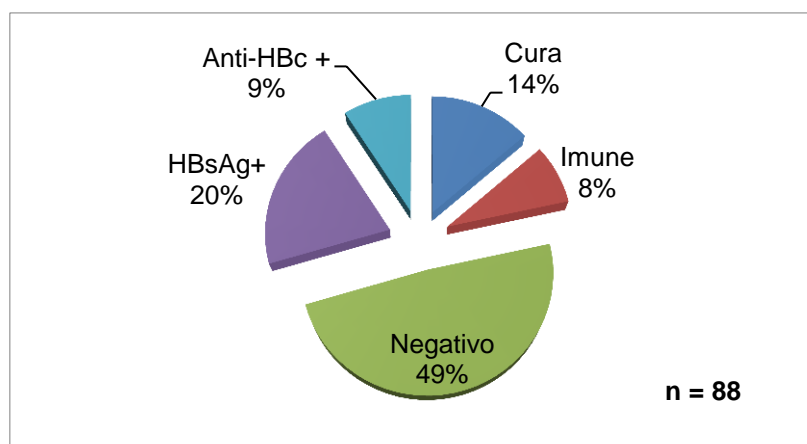


FIGURA 15. CLASSIFICAÇÃO DOS 88 PACIENTES HIV-1+ CONFORME OS MARCADORES SOROLÓGICOS PARA HBV.

FONTE: O autor, 2014.

Poucos pacientes coinfectados com HIV-1/HBV fizeram exames de biópsia hepática e ultrassom abdominal. Como mostram as figuras 16 e 17, 10 pacientes não realizaram o exame de biópsia e 9 não realizaram o ultrassom.

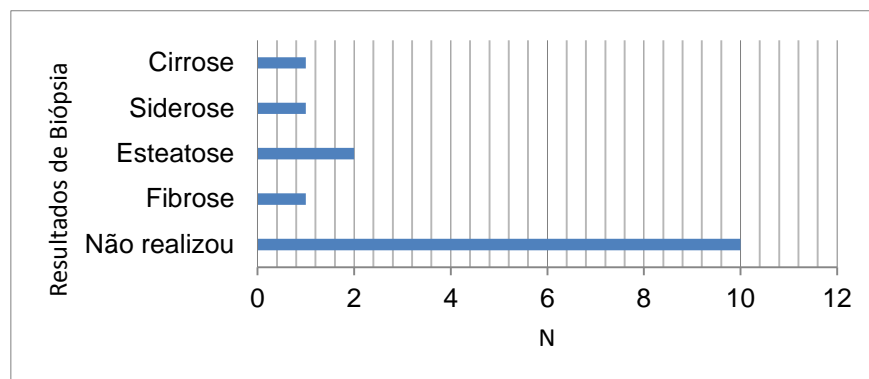


FIGURA 16. ACHADOS DE BIÓPSIA HEPÁTICA EM 15 PACIENTES COINFECTADOS COM HIV-1/HBV.
FONTE: O autor, 2014.

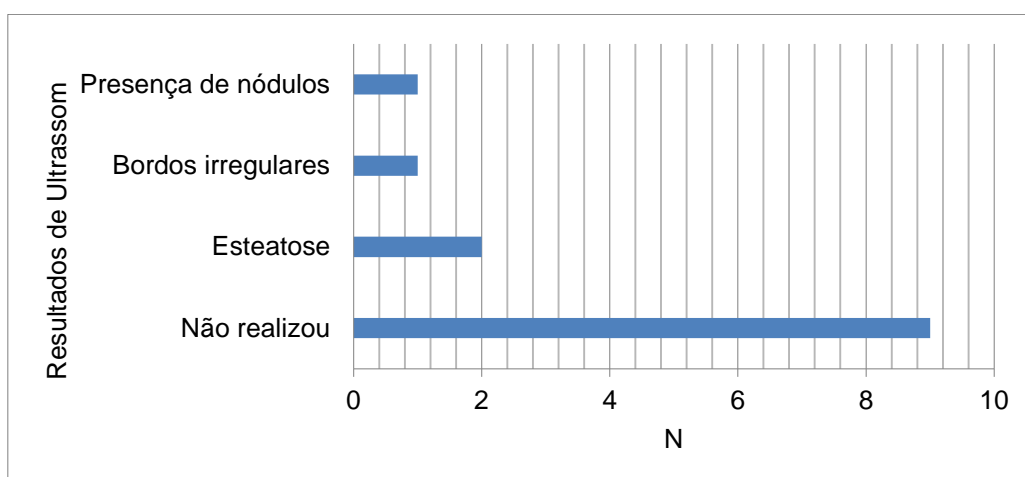


FIGURA 17. ACHADOS DE ULTRASSOM ABDOMINAL EM 18 PACIENTES HIV COINFECTADOS COM HBV.
FONTE: O autor, 2014.

Os medicamentos recomendados para os pacientes coinfectados HIV/HBV são a associação da lamivudina e tenofovir, pois ambos têm ação sobre estes vírus, além de incluir uma terceira droga com atividade antirretroviral. A figura 18 demonstra que 12 (67%) pacientes receberam tratamento adequado para o HBV, 4 (22%) estavam com a terapia inadequada e 2 (11%) não estavam em uso de nenhuma terapia para o HBV. Entre os pacientes em terapia adequada, em apenas

4 (33%) pacientes há informação de que tiveram boa resposta ao tratamento para o HBV.

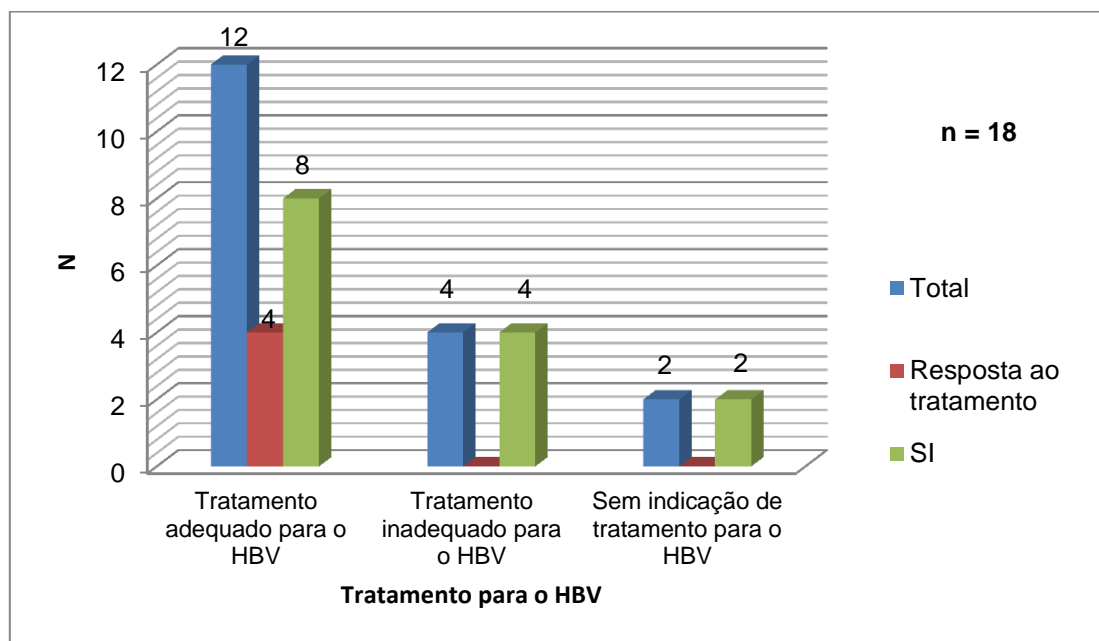


FIGURA 18. PACIENTES COINFECTADOS HIV/HBV - TRATAMENTO E EVOLUÇÃO E EVOLUÇÃO CLÍNICA.

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: SI= Sem informação

4.3 Coinfecção HIV/HCV

Com relação à coinfecção do HIV com HCV, 79/93 (85%) pacientes apresentaram positividade para o marcador anti-HCV, como mostrado anteriormente, mas nem todos os pacientes tiveram a confirmação da infecção pelo HCV por meio do teste de PCR como mostra o figura 19. Entre os pacientes com o HIV e HCV confirmados a mediana do tempo de diagnóstico foi de 7 anos (IQR 4,25-9).

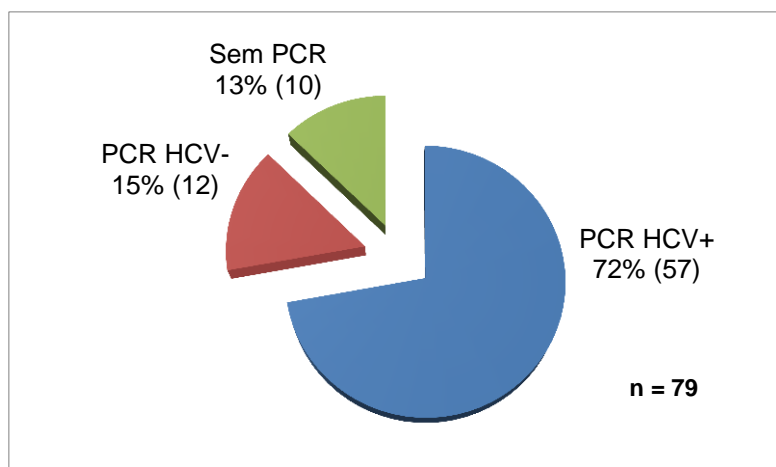


FIGURA 19. CONFIRMAÇÃO DA INFECÇÃO PELO HCV PELA METODOLOGIA DA PCR EM PACIENTES COM HIV-1.
FONTE: O autor, 2014.

Entre os 57 pacientes com a infecção do HCV confirmada, foi possível determinar o genótipo em 49 (86%), sendo que o genótipo mais frequentemente encontrado foi o 1a/b (65%), seguido dos genótipos 3a, 4 e 2b, como mostra o figura 20.

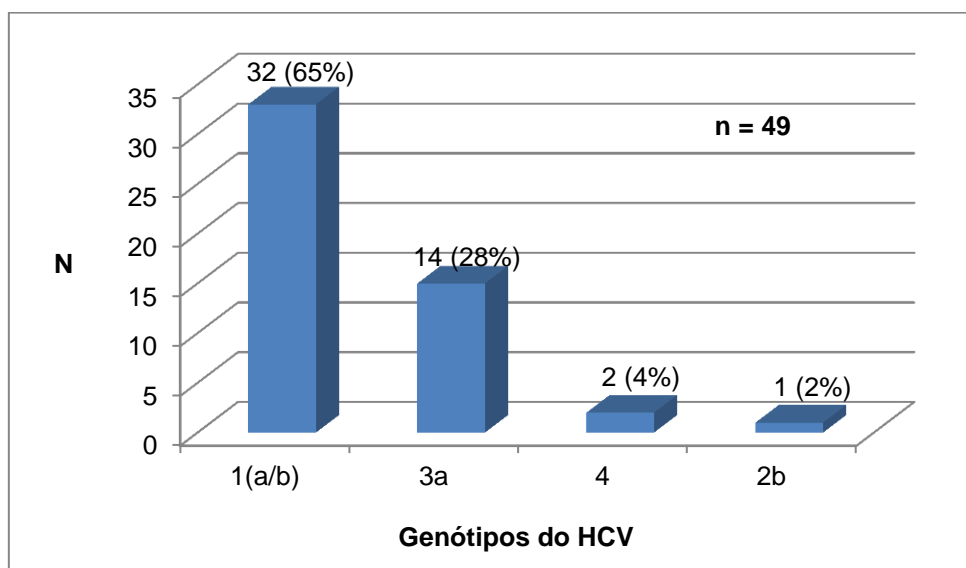


FIGURA 20. DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS DO HCV EM 49 PACIENTES HIV-1.
FONTE: O autor, 2014.

Dos pacientes coinfectados HIV/HCV, 64% (37/57) fizeram biópsia e as alterações mais frequentes nos achados de biópsia estão ilustrados na figura 21.

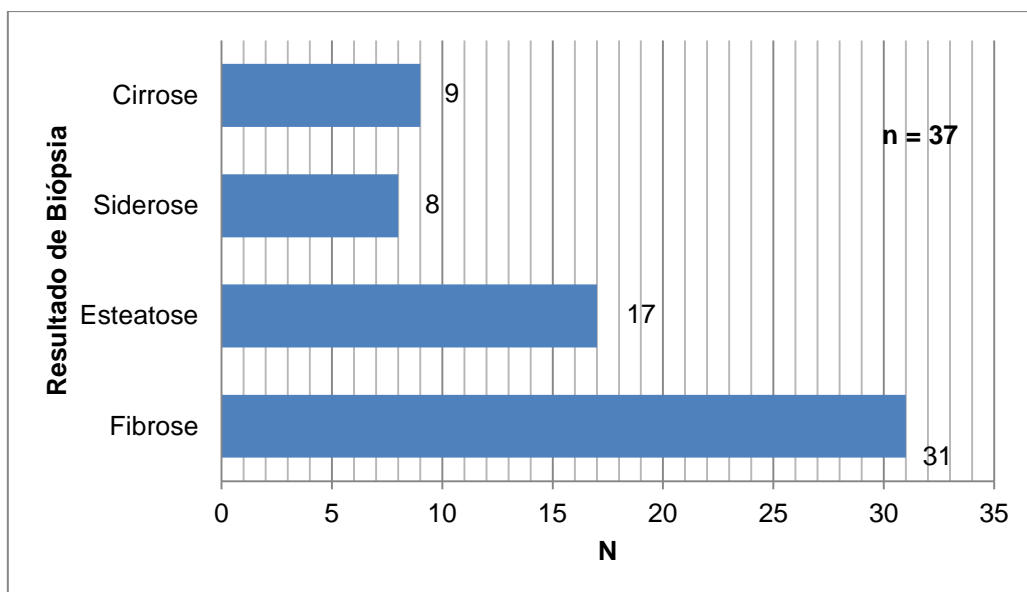


FIGURA 21. ACHADOS DE BIÓPSIA EM 37 PACIENTES COINFECTADOS CIM HIV-1/HCV.

FONTE: O autor, 2014.

Trinta e nove (68%) pacientes coinfetados HIV-1/HCV fizeram exames de ultrassom abdominal para investigar alterações hepáticas, que foi verificada em 17 (43%) indivíduos (figura 22).

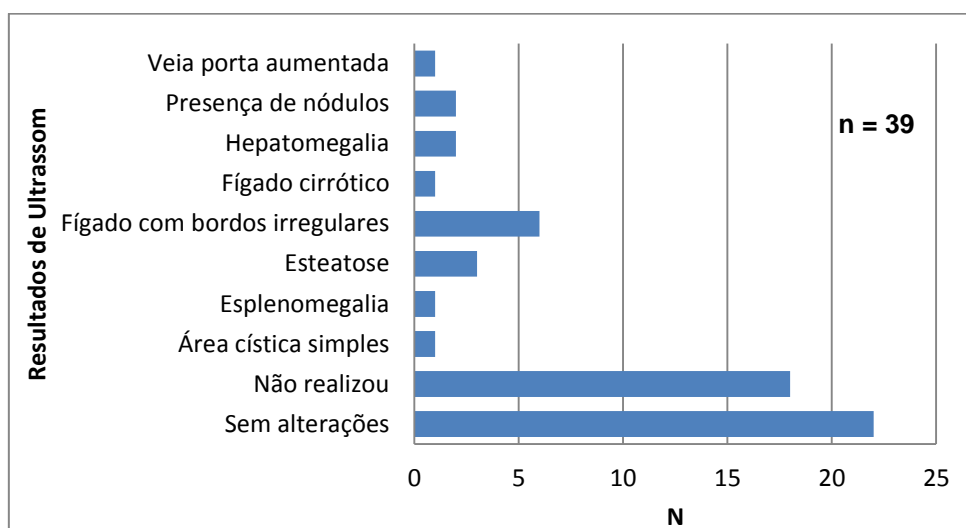


FIGURA 22. ACHADOS DE ULTRASSOM ABDOMINAL EM 39 PACIENTES COINFECTADOS COM HIV-1/HCV.

FONTE: O autor, 2014.

Vinte e oito (24%) pacientes coinfectados HIV/HCV receberam tratamento com a associação de ribavirina e interferon peguilado, sendo que em 57% (16) dos casos a resposta à terapia foi nula.

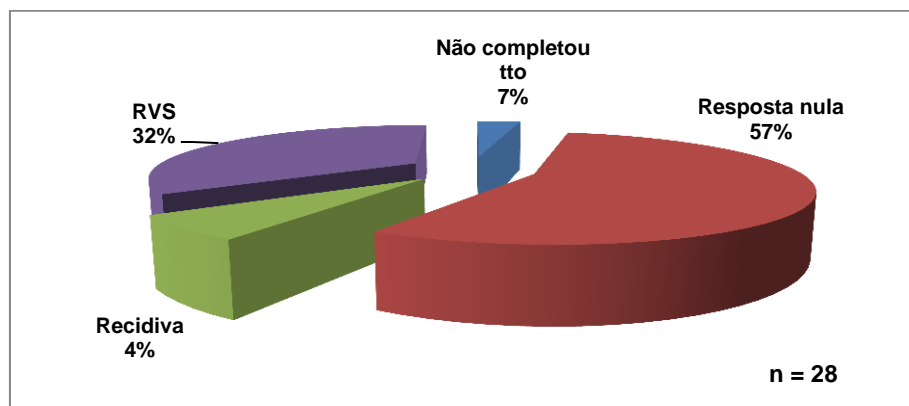


FIGURA 23. RESPOSTA À TERAPIA PARA O HCV EM PACIENTES COINFECTADOS COM HIV-1/HCV.
FONTE: O autor, 2014.

Ao relacionar os achados dos genótipos com os achados de resposta ao tratamento para o HCV, observou-se que o genótipo 1a/b mostra um índice de resposta nula mais elevado em relação aos outros genótipos (figura 24).

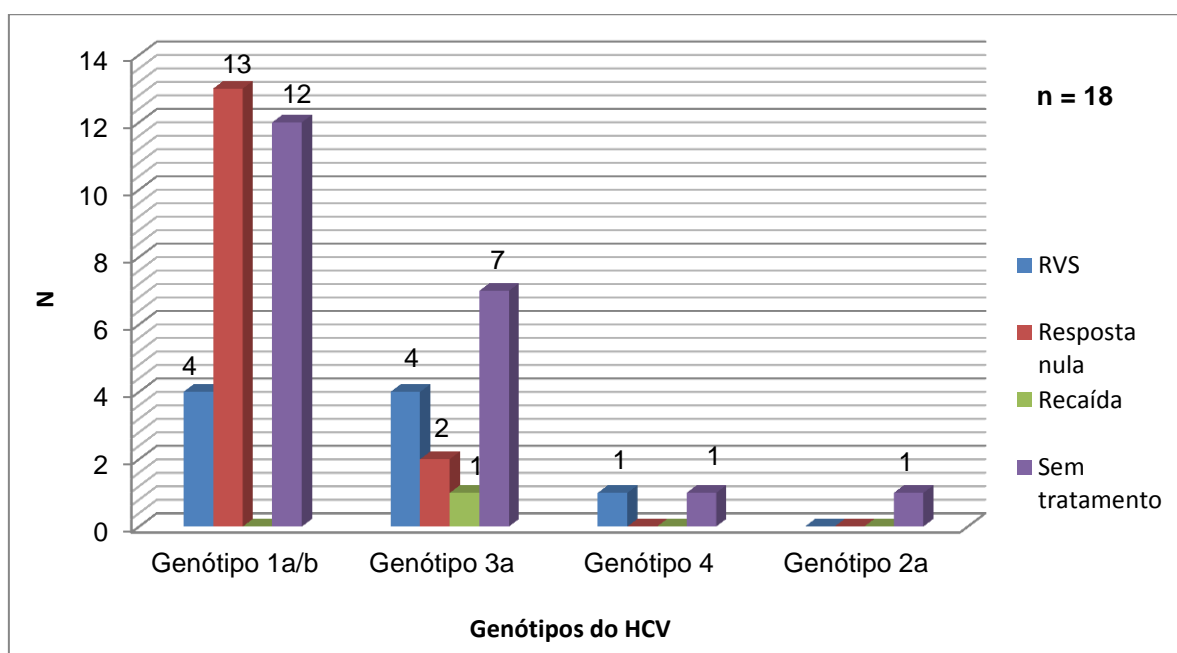


FIGURA 24. GENÓTIPOS DO HCV E RESPOSTA AO TRATAMENTO EM PACIENTES COINFECTADOS POR HIV E HCV.
FONTE: O autor, 2014.

4.4 Subtipagem do HIV-1

Entre os indivíduos coinfectados HIV-1/HBV ou HIV-1/HCV abordados 49/75 (64%) pacientes coletaram amostra de sangue periférico para avaliação genotípica do HIV-1.

Antes da subtipagem do HIV-1, foi feito o teste da β -globina humana em cada amostra para verificar a presença de inibidores de PCR além de servir como controle de interno de extração (figura 25).

Todas as 49 amostras testadas tiveram a PCR, para β -globina humana detectável sendo possível prosseguir com os demais testes.

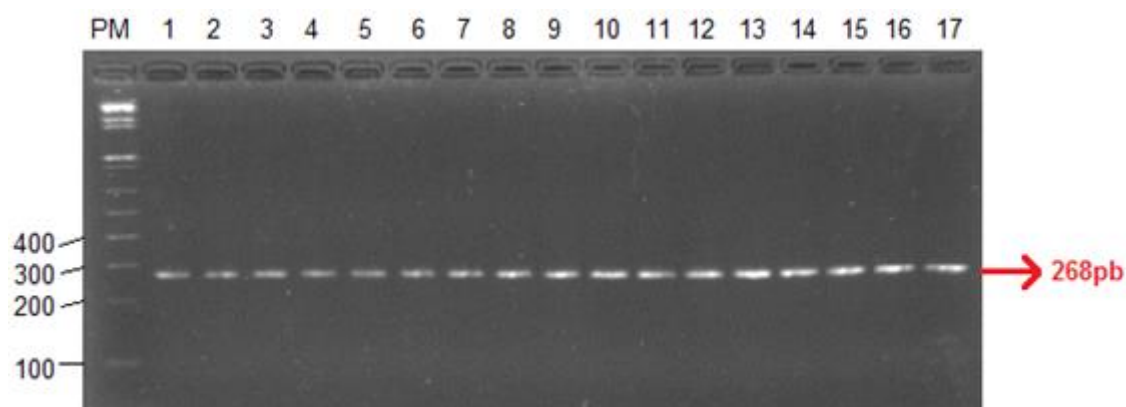
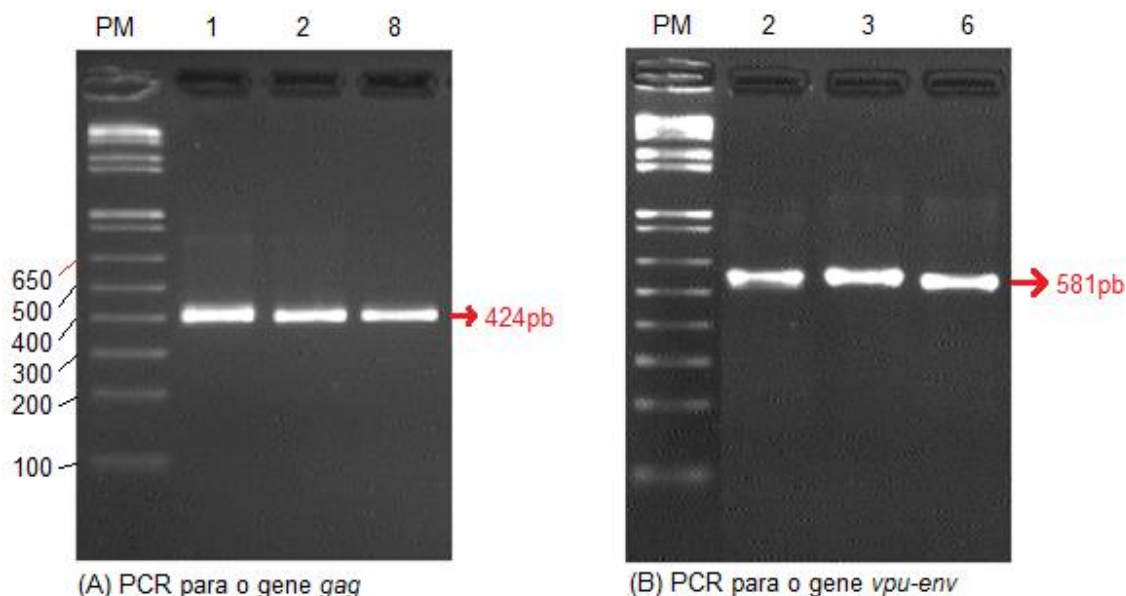


FIGURA 25. REPRESENTAÇÃO DA PCR PARA B-GLOBINA HUMANA EM GEL DE AGAROSE A 1% CONTENDO COM BROMETO DE ETÍDIO.

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: PM: Peso molecular 1 kb plus; 1 a 17: amostras.

Somente após os resultados da β -globina foi feita a PCR para as regiões *gag* e *vpu-env* do HIV-1, cujos produtos amplificados apresentavam tamanhos de 424 e 581pb, respectivamente (figuras 26 A e B).



(A) PCR para o gene *gag*

(B) PCR para o gene *vpu-env*

FIGURA 26. REPRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS DA PCR PARA OS GENES *GAG* E *VPU-ENV* DO HIV-1 EM GEL DE AGAROSE 1% CONTENDO BROMETO DE ETÍDIO.

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: (A) representação do produto de PCR para o gene *gag* com aproximadamente 424pb; (B) representação do produto de PCR para o gene *vpu* com aproximadamente 581pb.

PM: Peso molecular 1kb plus.

De um total de 49 amostras de sangue de pacientes coinfectados com HIV-1/HBV ou HIV-1/HCV, foi possível obter a amplificação do material genético em 34 delas (73%), sendo que 7 amostras foram sequenciadas somente para o gene *gag*, 16 para o gene *vpu-env* e 11 tanto para *gag* quanto para *vpu-env*.

4.4.1 Sequências analisadas com base no gene *gag*

A análise filogenética das sequências obtidas tanto para o gene *gag* quanto para o gene *vpu-env* foi feita buscando sua relação com os distintos subtipos de referência do HIV-1 presentes em um banco de dados de domínio público.

A figura 27 representa a árvore filogenética de sequências obtidas a partir de produtos amplificados da região que codifica o gene *gag* que mostra que 12 sequências se agruparam com o grupo de referência do subtipo C (vermelho). As demais sequências se distribuíam entre os subtipos BC (azul escuro), B (verde) e BF (azul claro).

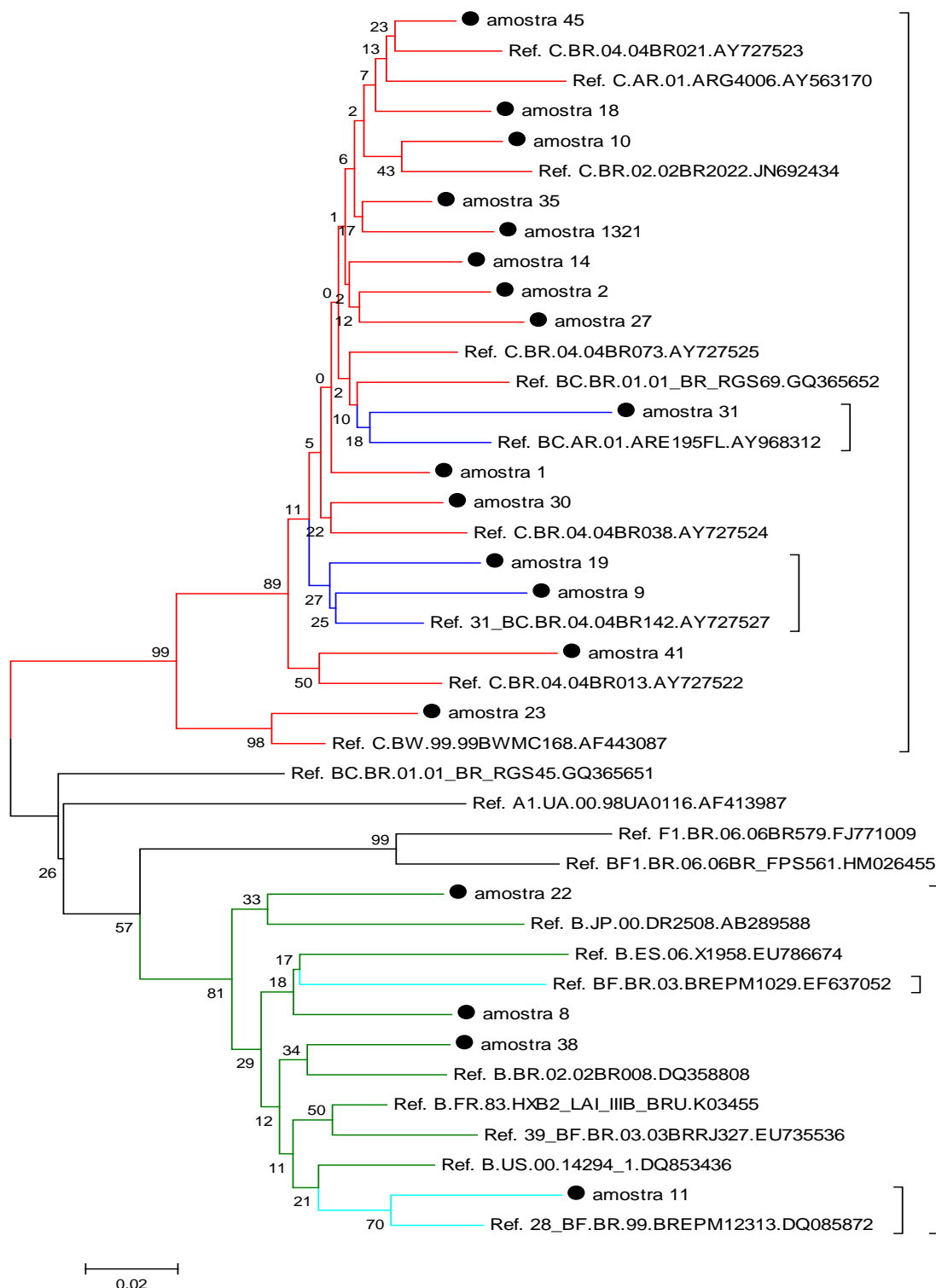


FIGURA 27. ÁRVORE FILOGENÉTICA DE SEQUÊNCIAS DO HIV-1 DE PACIENTES COINFECTADOS COM HBV OU HCV ATENDIDOS NO HC-UFPR, CONTITUÍDA PELO MODELO *NEIGHBOR JOINING*, COM BASE EM UMA SEQUENCIA DE 501 NUCLEOTÍDEOS DA REGIÃO DO GENE *VPU-ENV*, E UM PAINEL DE REFERÊNCIA DE SEQUENCIA OBTIDA DO *GenBank*. AS SEQUÊNCIAS DO *GenBank* SÃO IDENTIFICADAS PELOS SUBTIPOS, SEGUIDO DOS PAÍSES DE ORIGEM E O NÚMERO DE ACESSO. AS SEUQUÊNCIAS DO HIV-1 DOS PACIENTES ESTÃO IDENTIFICADAS PELO SUE RESPECTIVO NÚMERO.

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: (•) amostras incluídas no estudo; as cores dos ramos representam os subtipos C (vermelho), BC (azul escuro), B (verde) e BF (azul claro).

4.4.2 Sequências analisadas com base no gene *vpu-env*

As sequências analisadas para o gene *vpu-env* se agruparam em 3 grandes grupos, com os subtipos BF (azul claro) B (verde) e C (vermelho). Além desses subtipos, algumas amostras se agruparam com o subtipo BC (azul escuro) (figura 28).

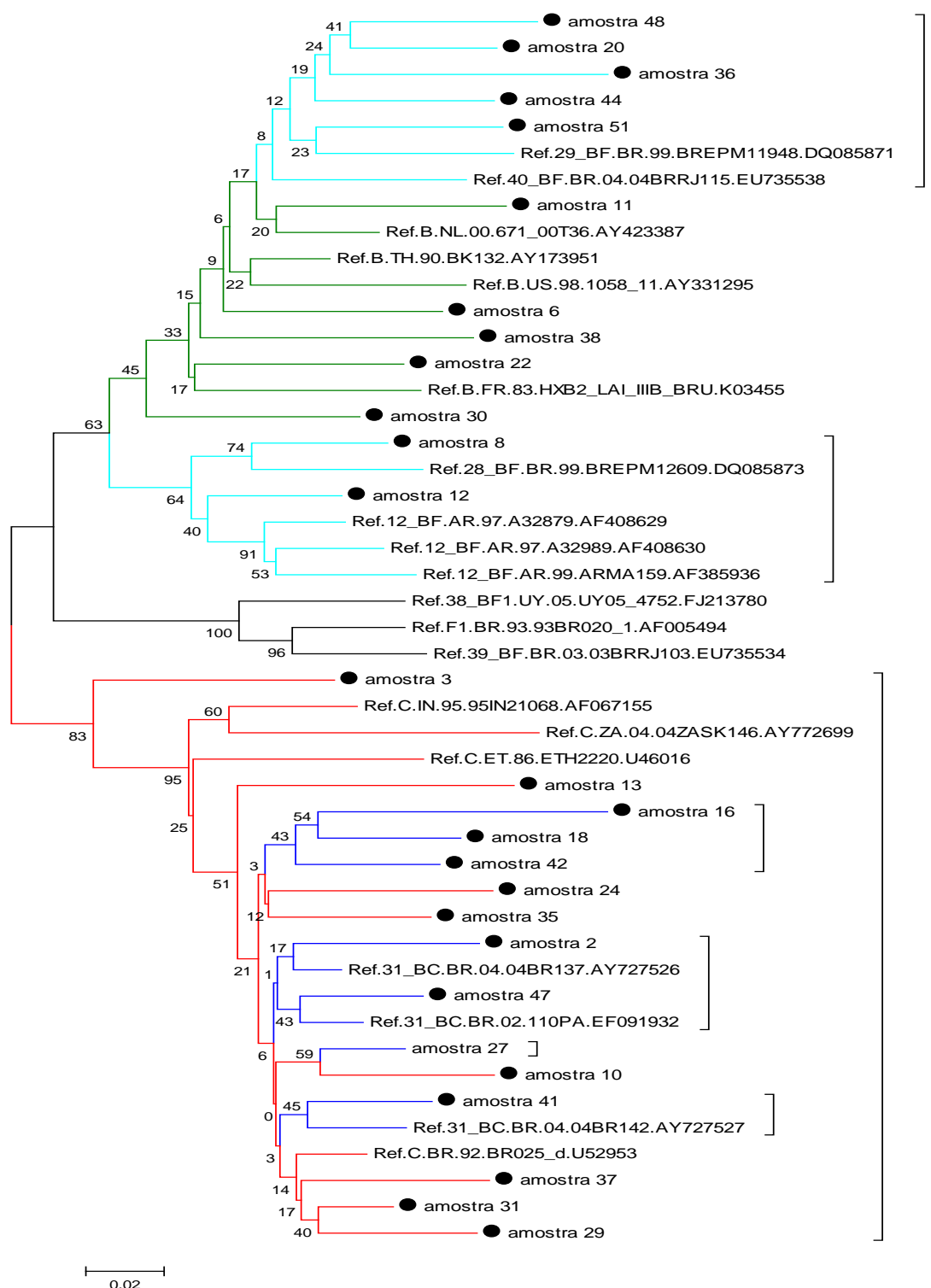


FIGURA 28. ÁRVORE FILOGENÉTICA DE SEQUÊNCIAS DO HIV-1 DE PACIENTES COINFECTADOS COM HBV OU HCV ATENDIDOS NO HC-UFPR, CONTITUIDA PELO MODELO *NEIGHBOR JOINING*, COM BASE EM UMA SEQUENCIA DE 501 NUCLEOTÍDEOS DA REGIÃO DO GENE *VPU-ENV*, E UM PAINEL DE REFERÊNCIA DE SEQUENCIA OBTIDA DO *GenBank*. AS SEQUÊNCIAS DO *GenBank* SÃO IDENTIFICADAS PELOS SUBTIPOS, SEGUIDO DOS PAÍSES DE ORIGEM E O NÚMERO DE ACESSO. AS SEUQUÊNCIAS DO HIV-1 DOS PACIENTES ESTÃO IDENTIFICADAS PELO SUE RESPECTIVO NÚMERO.

FONTE: O autor, 2014.

NOTA: (•) amostras incluídas no estudo; as cores dos ramos representam os subtipos C (vermelho), BC (azul escuro), B (verde) e BF (rosa).

Com base nos resultados fornecidos pela filogenia, os subtipos do HIV encontrados são demonstrados na tabela 4.

TABELA 5. RESULTADO DA ANÁLISE FILOGENÉTICA DAS 34 AMOSTRAS DE PACIENTES COINFECTADOS COM HIV-1/HBV OU HIV-1/HCV COM BASE NOS GENES *GAG* E *VPU-ENV* DO HIV-1.

Subtipos do HIV-1 para os genes <i>gag</i> e <i>vpu-env</i>		
Amostra	Filogenia - gene <i>gag</i>	Filogenia - gene <i>vpu-env</i>
1	C	..
2	BC	BC
3	..	C
6	..	B
8	..	BF
9	BC	..
10	C	C
11	BF	BF
12	..	BF
13	..	C
14	C	..
16	..	BC
18	BC	BC
19	BC	..
20	..	BF
22	B	B
23	C	..
24	..	C
27	BC	BC
29	..	C
30	C	B
31	BC	BC
35	C	C
36	..	BF
37	..	C
38	B	B
41	BC	BC
42	..	BC
44	..	BF
45	C	..
47	..	BC
48	..	BF
51	..	BF
1321	C	..

FONTE: O autor, 2014.

Algumas amostras apresentaram discordância nos resultados e foi considerado o resultado com maior percentual de homologia com a amostra de referência obtendo o seguinte resultado: 12 amostras do subtipo C, 10 BC, 8 BF, 3 B e uma amostra onde não foi possível identificar o subtipo apresentando os subtipos B e C para cada gene em questão.

4.4.3 Distribuição dos subtipos de acordo com as hepatites B e C

Entre os 18 pacientes coinfectados com HIV-1/HBV, somente 1 paciente teve seu subtipos do HIV-1 identificados por meio da análise do gene *gag*, correspondendo ao subtipo B, sendo que entre os pacientes coinfectados com HIV-1/HCV (59 indivíduos) observou-se um predomínio do subtipo BC com 6 indivíduos, sendo que os demais subtipos se distribuíram em 1 paciente correspondendo ao subtipo B e 2 ao C.

Na caracterização dos subtipos do HIV-1 através do gene *vpu-env* em pacientes coinfectados com HIV-1/HBV, o subtipo BF (5) foi o mais prevalente seguido do subtipo B (2) e C (2). Já na caracterização dos subtipos nos casos de coinfecção com HIV-1/HCV observou-se maior prevalência do subtipo BC com 7 pacientes subtipados, seguidos dos subtipos C (3), B (2) e BF (2).

Entre os 34 pacientes incluídos na caracterização do subtipo do HIV-1, observou-se que a maioria deles relatou ser heterossexual (76,4%, 26/35), e com relação ao uso de drogas, observou-se que 55,8% (19/34) dos pacientes são usuários de drogas sendo que 41% (14/34) são UDI, prevalecendo o subtipo BC tanto para o gene *gag* quanto para o gene *vpu-env* entre os UDI (figuras 29 e 30).

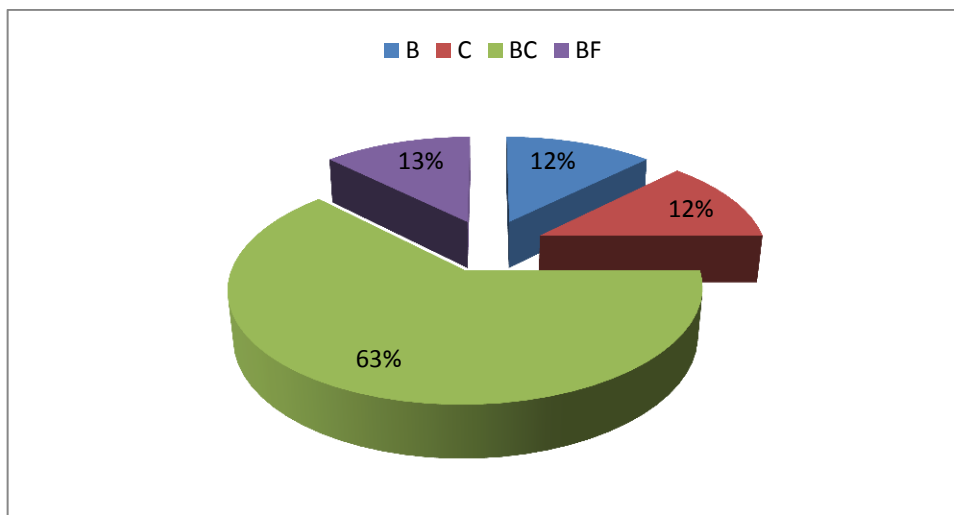


FIGURA 29. DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 DE ACORDO COM O GENE GAG EM 8 PACIENTES UDI CONECTADOS COM HIV-1/HBV OU HIV-1/HCV. FONTE: O autor, 2014.

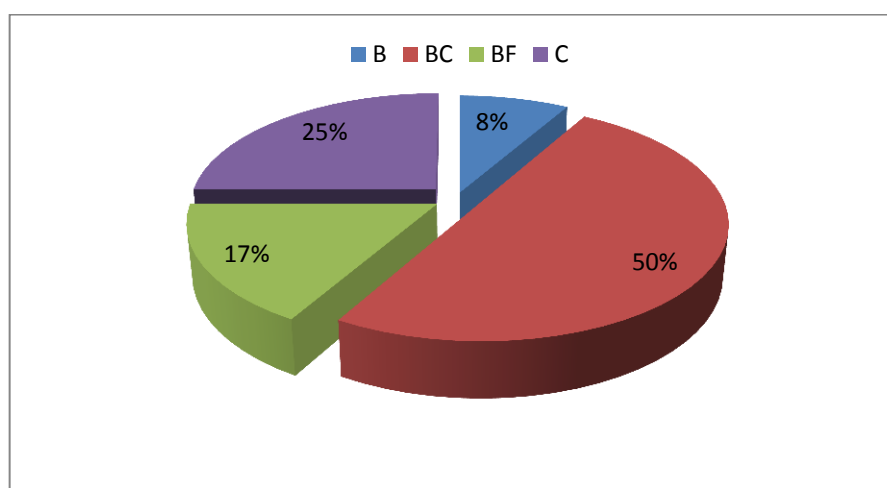


FIGURA 30. DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 DE ACORDO COM O GENE VPU-ENV EM 12 PACIENTES UDI COINFECTADOS COM HIV-1/HBV OU HIV-1/HCV. FONTE: O autor, 2014.

Quanto à avaliação clínica do HIV, observou-se que 90% (30/35) dos pacientes estavam em uso de TARV até o momento da entrevista com carga viral indetectável em 67% (23/35) dos pacientes e dosagens de LT CD4⁺ apresentando mediana de 485 células/mm³ (IQR 306-630). Onze pacientes apresentaram carga viral detectável com maior prevalência do subtipo BC entre os dois genes estudados (figura 31).

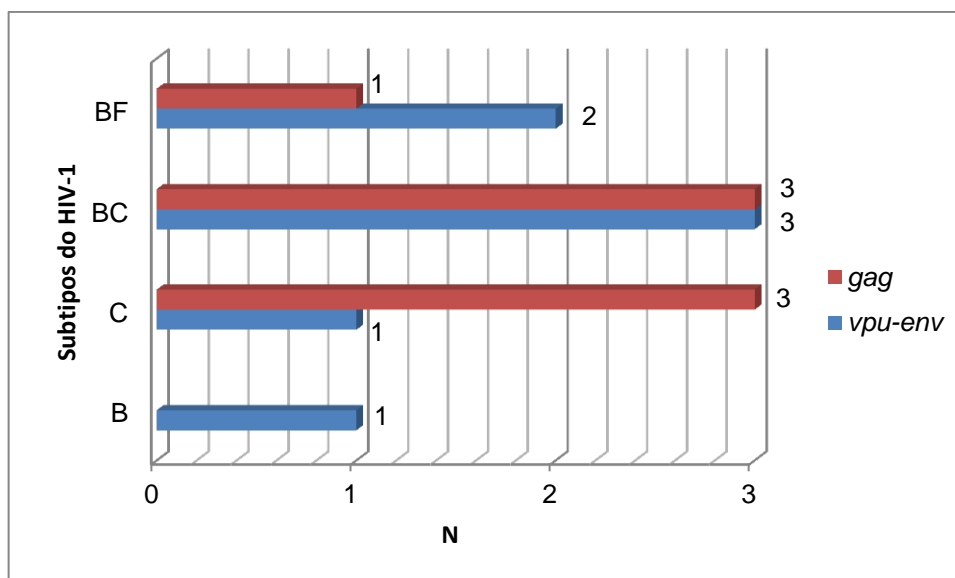


FIGURA 31. DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 EM 11 PACIENTES COINFECTADOS COM HIV/HBV OU HIV/HCV, COM CARGA VIRAL DO HIV DETECTÁVEL.
FONTE: O autor, 2014.

5. DISCUSSÃO

A infecção de vírus hepatotrópicos em associação com o HIV é frequentemente descrita, pois estas infecções estão relacionadas com a forma comum de transmissão que estes vírus compartilham. As coinfeções HIV/HBV e HIV/HCV são mais um desafio para os clínicos que assistem a estes pacientes estimulando e desafiando os infectologistas a cada vez mais conhecer sobre a disponibilidade de tratamentos mais efetivos para ambas as enfermidades (AGUIAR *et al.*, 2005).

O HIV atingiu proporções epidêmicas nos anos 80 nos Estados Unidos e na Europa, onde a maioria das infecções era adquirida por contato homossexual seguida da disseminação para a população heterossexual. Essa infecção pode ser adquirida tanto por transmissão sexual entre os heterossexuais e homossexuais, como por transmissão vertical, sendo uma infecção com grande impacto na saúde pública global (TOVO *et al.*, 2006).

A história natural da infecção pelo HBV na presença da coinfeção pelo HIV, apresenta uma evolução complicada, com uma maior frequência de hepatite crônica, maiores valores na replicação do HBV e menor incidência de perda espontânea de do marcador sorológico HBsAg. Além disso, a incidência de cirrose e mortalidade atribuível à doença do fígado aumenta significativamente quando a infecção por HBV está associada à infecção pelo HIV (KONOPNICKI *et al.*, 2005).

A infecção pelo HCV tem se mantido como uma importante causa de mortalidade em pacientes portadores do HIV (AMARAL *et al.*, 2007). Essa coinfeção pode ser deletéria, pois o HIV pode levar à progressão mais rápida da infecção pelo HCV aumentando a viremia e acelerando a evolução para a cirrose, assim como o HCV, parece acelerar a progressão da infecção pelo HIV aumentando a carga viral do HIV-1 e diminuindo as dosagens de células T CD4⁺ (TOVO *et al.*, 2006).

Observou-se que, entre os pacientes incluídos neste estudo que fizeram a pesquisa para as hepatites virais, predominou o gênero masculino em comparação ao feminino, com maior número de homens coinfectados por HIV e HCV (61,5%, 35/57) do que por HIV e HBV (89%, 16/18). Além disso, o grupo em estudo foi considerado um grupo jovem. Este achado pode estar relacionado ao fato de a

população masculina jovem se expor mais aos vírus (AMARAL *et al.*, 2007). A maioria dos pacientes é da raça branca, concordando com estudos prévios, como o de Souza *et al.*, 2004, que teve em seus resultados um predomínio de pacientes masculinos, brancos e jovens.

Entre estes indivíduos observou-se que uma pequena quantidade (38%) é procedente de Curitiba. Os demais são da região metropolitana, de outras cidades do estado do Paraná e até mesmo de outras cidades do país mostrando que a coinfeção não atinge somente grandes centros. Além disso, foi possível identificar que esses indivíduos possuem o predomínio de baixa e média escolaridade tanto entre o grupo de pacientes coinfectados com HBV quanto nos coinfectados por HCV (escolaridade de 4 a 7 anos), coincidindo com os dados descrito pelo estudo de Marchesini *et al.*, 2007 onde os pacientes coinfectados atingiam até seis anos de estudo.

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2012), 23,3% dos pacientes HIV positivos notificados no Brasil, não necessariamente coinfectados, são UDI. Mais da metade dos pacientes entrevistados neste estudo relatou o uso de drogas sendo ela injetável ou não (inalada e aspirada) sendo que entre a maioria dos pacientes que relataram o UDI (drogas por via endovenosa), existe maior distribuição entre os pacientes HIV/HCV (61,5%, 24/36) em relação aos pacientes HIV/HBV (50%, 4/8), confirmando a preferência desta via para a transmissão destes patógenos conforme relatado por McCOY *et al* (2004); e FERNÁNDEZ-MONTERO, (2012). Porém, o uso de drogas como fator de risco para a transmissão do HBV não deixa de ser significativa quando consideradas as características dos pacientes HIV positivos atendidos no HC-UFPR, onde se observa baixo percentual de usuários de drogas entre mono infectados pelo HIV.

Quando consideradas as características da população de pacientes portadores de HIV atendidos no HC-UFPR (1.400 pacientes), a prevalência de uso de drogas é pouco significativa, há boa adesão à terapia antirretroviral e o comportamento sexual é o fator de risco mais importante para transmissão do HIV, sendo a maior parte dos pacientes homossexuais masculinos ou heterossexuais com múltiplos parceiros.

Apesar desta população geral de pacientes HIV positivo não ser de alto risco para transmissão parenteral do HCV, com baixo índice de usuários de drogas, a prevalência de tal comportamento entre os indivíduos coinfectados HIV/HCV

ultrapassou 50%. Esta taxa é compatível às apontadas em estudos anteriores a este, que mostraram que 50% a 90% dos indivíduos que se infectaram com o HIV por meio do compartilhamento de seringas para o uso de drogas injetáveis também eram infectados pelo HCV (SHERMAN *et al.*, 2002), confirmando a importância de se investigar precoce e sistematicamente a coinfeção pelo HCV em todos os pacientes HIV positivos, principalmente entre aqueles que relatam uso de drogas.

Assim como já relatado em algumas análises, como por exemplo, o estudo de Amaral *et al.*, (2007), no presente estudo foi verificado que, mesmo existindo pacientes que se declararam homossexuais, a maioria dos pacientes são heterossexuais (66%), possivelmente com parceiro fixo entre 1 a 2 parceiros por ano.

Em contraposição, entre os coinfectados pelo HIV/HBV, um número menor de pacientes relataram possuir parceiro sexual fixo (28%, 5/18), além de maior proporção de homossexuais (33%, 6/18). Ao comparar as diferenças de resultados referentes ao comportamento sexual entre os grupos de pacientes HIV/HCV e HIV/HBV observa-se significância estatística ($p= 0.0016$), confirmando o conhecido papel da atividade sexual como um fator de risco mais importante na transmissão do HBV do que na transmissão do HCV (LACOMBE; ROCKSTROH, 2012).

O uso de tatuagens (36%) e *piercing* (67%) também foram frequentes. Já os casos de suspeita de transmissão relacionada à transfusão sanguínea são notificados e investigados imediatamente ao seu relato fazendo com que esta via não seja considerada fator de risco para a infecção do HBV ou HCV nos paciente com HIV atendidos no HC-UFPR mesmo estando presente em 58% dos pacientes. Além disso, apesar do grande número de relatos de transfusão encontrados no presente estudo, os pacientes também relataram outros fatores de risco como o uso abusivo de álcool, onde 41% dos pacientes declararam fazer ou já ter feito uso abusivo da substância, e o uso de drogas injetáveis encontrada em 30% dos pacientes. Achados como estes, podem dificultar a determinação, com exatidão, da via responsável pela transmissão dos vírus (AMARAL *et al.*, 2007). Apesar de serem fatores importantes para a aquisição da coinfeção, para que tais achados fosse considerados como risco para a coinfeção neste grupo de pacientes é necessário que haja a comparação desses resultados com os resultados de uma avaliação de um grupo de pacientes monoinfectados pelo HIV-1. Por tal motivo o uso de

tatuagens, *piercing*, e transfusão sanguínea não foram considerados fatores de risco para a aquisição da coinfeção.

A característica da aids é a depleção dos linfócitos T CD4⁺, resultado de um tropismo do HIV por esta população de células, devido à alta afinidade de proteínas do envelope viral pela LT CD4⁺, isso explica porque alterações na carga viral do HIV geralmente implicam em alterações na contagem de células CD4 (TOVO et al., 2007). Até o momento da coleta dos dados observou-se que a maioria dos pacientes tanto no grupo HIV/HBV quanto no grupo HIV/HCV, apresentou os valores de carga viral abaixo do limite de detecção e os valores da quantificação de LT CD4⁺ mostraram-se consideráveis para os valores atuais quanto os valores nadir, mostrando que houve melhora da imunidade celular desses pacientes. Além disso, quando comparados os dois grupos (HIV/HBV e HIV/HCV) observou-se que entre os indivíduos HIV/HBV a contagem de LT CD4⁺ (465,5 células/mm³) foi maior que os indivíduos do grupo HIV/HCV (288 células/mm³) mostrando que nos casos de coinfeção HIV-1/HBV existe uma melhor resposta para o HIV-1 em comparação à resposta do HIV-1 nos casos de coinfeção HIV-1/HCV. O uso de TARV pode explicar a carga viral abaixo do limite de detecção e o aumento da dosagem dos LT CD4⁺ em relação aos valores de LT CD4⁺ nadir na maioria dos pacientes.

Neste estudo não foi incluído um grupo controle de pacientes HIV positivos monoinfectados para comparar a evolução clínica da infecção pelo HIV e resposta à TARV com a resposta observada em casos de coinfeção pelo HBV ou HCV. Para este fim, novos estudos com este objetivo deverão incluir um grupo controle de pacientes monoinfectados pelo HIV considerado o desafio de que as características sócio demográficas e clínicas dos dois grupos sejam pareadas permitindo a eliminação de variáveis de confusão na avaliação dos resultados por estatística analítica.

Entre os 1.400 pacientes portadores do HIV atendidos no HC-UFPR, apenas 93 foram identificados entre os pacientes que foram em algum momento investigados para a presença de HBV ou HCV, representando aproximadamente 6,6% (93/1400) dos pacientes, sendo que em torno de 4% (57/1400) são portadores do HCV e 1% (18/1400) são portadores do HBV. A baixa prevalência observada reflete a infrequente investigação da infecção pelos vírus HBV e HCV nesta população apesar da ampla recomendação dos protocolos atuais para investigação periódica da coinfeção com HBV e HCV.

O número baixo de indivíduos investigados para as hepatites virais pode ser reflexo da publicação do “Consenso Brasileiro de Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV” pelo Ministério da Saúde, em 2010, o (BRASIL, 2008b), com um adendo recomendando o tratamento precoce do HIV em indivíduo com coinfecção por HBV e HCV, para os serviços de saúde introduzirem em suas rotinas protocolos que visavam a investigação sistemática destas coinfecções. Tal modificação representou grande avanço na abordagem destes pacientes, pois até este período a detecção de doença hepática em indivíduos com contagem de células T CD4+ inferior a 350 células/mm³ não indicava a instituição de tratamento específico, de tal modo que, mesmo sendo diagnosticados, estes pacientes não eram tratados. Anteriormente a isto, o rastreamento das hepatites virais em pacientes HIV positivos era baseado apenas na presença de sintomas ou sinais clínicos que suscitasse suspeita para a coinfecção e justificassem sua investigação.

Nos pacientes coinfectados a mediana de idade entre os indivíduos do grupo HIV/HCV (47 anos, IQR 42 - 53) mostrou-se superior àquela observada para os indivíduos coinfectados pelo HIV/HBV (41 anos, IQR 37,7 – 51,5), apresentando diferença estatisticamente significativa entre os grupos. O achado demonstra que a infecção pelo HBV é diagnosticada em indivíduos mais jovens, em razão do seu curso clínico usualmente mais sintomático e do aumento significativo de transaminases hepáticas que pode estar relacionado a esta infecção, favorecendo o diagnóstico mais precocemente no curso da doença. Esses achados corroboram com o fato de que a apresentação subclínica de hepatite é mais frequente entre indivíduos infectados pelo HCV, retardando o diagnóstico (BRASIL, 2008b).

A mediana do tempo de diagnóstico entre as duas coinfecções apresentou uma diferença de apenas um ano entre elas e foi de 6 (IQR 4,5 – 7) anos para o HBV e 7 (IQR 5 – 9,5) anos para o HCV, indicando mais uma vez que a possível ausência de sintomas e sinais clínicos nos casos de infecção pelo HCV pode levar a um diagnóstico mais tardio em relação ao HBV.

A hepatite B pode ser um cofator para a progressão para a cirrose em pacientes que já tenham uma doença hepática crônica. Nos casos de coinfecção HIV/HBV essa é a principal causa de morte entre esses pacientes (BRAGA *et al.*, 2006).

A infecção pelo HBV é assintomática, justificando a pesquisa de marcadores em pessoas sem história prévia de doença (SOUZA *et al.*, 2009). No presente estudo não foi pesquisada a presença de sintomas para HBV, sendo diretamente pesquisada a positividade dos marcadores sorológicos para o HBV para caracterização da coinfeção com o HIV.

Os achados de coinfeção HIV/HBV corresponderam a 1,3% e estão abaixo dos relatos da literatura que dizem que esta coinfeção ocorre em torno de 5,3% a 24,3% (PUOTI *et al.*, 2002), além disso, os resultados dos testes sorológicos mostram que 49% dos pacientes não tiveram a presença de qualquer marcador sorológico para o HBV, aos quais recomenda-se a profilaxia da infecção mediante vacina (BRASIL, 2008b). A imunização para o HBV pôde ser observada em 8% dos indivíduos (presença isolada do anticorpo anti-HBs) e a recuperação (cura) em 14% dos pacientes (anti-HBc e anti-HBs positivos) salientando a importância da imunização nos pacientes que sejam portadores do HIV. No presente estudo não foi realizada pesquisa sobre o estado vacinal para HBV dos pacientes.

Nove por cento dos pacientes tiveram os anticorpos anti-HBc como o único marcador detectado. Este achado pode ser compatível com três hipóteses. A primeira é que pode ter ocorrido infecção prévia com resolução espontânea desta infecção, mas os títulos de anticorpos anti-HBs diminuíram com o passar do tempo sendo indetectáveis por métodos diagnósticos realizados para a identificação do marcador (BRASIL, 2008a). A investigação da cura pode ser feita com a repetição da pesquisa do anti-HBc e a vacinação do paciente seguida de quantificação dos títulos de anti-HBs após sete dias. Em caso de nova positividade do anti-HBc e detecção de anti-HBs, a cura é confirmada (SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, 2007). A segunda hipótese é a infecção por vírus B oculto, onde se tem a variante mutante sem a presença de antígeno “s” (ausência de HBsAg). A comprovação desta situação pode ser realizada através da PCR para detecção do DNA do HBV (RAIMONDO *et al.*, 2012). A outra possível causa de anti-HBc+ isolado é um exame falso positivo (repetição do teste do anti-HBc com resultado negativo). Neste caso é necessária a repetição do exame acompanhada de vacinação com quantificação do anti-HBs e os casos que persistirem inconclusivos devem proceder com investigação através da PCR. Não houve uma investigação completa nos pacientes atendidos no serviço de referência do HC-UFPR, possivelmente pela tardia publicação de atualizações dos consensos do Ministério da Saúde, fazendo

com que a implantação de protocolos específicos por parte dos profissionais tenha sido tarde ou pela impossibilidade de realização do exame.

Existem evidências de que a coinfeção HIV/HBV modifica significativamente a história natural do HBV. Esta coinfeção está associada com o aumento das taxas de cronificação do HBV, maior replicação do HBV, redução na perda espontânea de alguns marcadores e soroconversão para o anti-HBe e anti-HBs (POUTI *et al.*, 2002).

Alguns estudos identificaram a progressão mais rápida para a cirrose nos casos de coinfeção HIV/HBV assim como os estudos de Braga *et al.*, (2006) que também mostram que o HBV pode contribuir na progressão para a cirrose. São poucos os pacientes que realizaram os exames de biópsia e ultrassom neste estudo, e quando os exames foram realizados revelaram predominância da esteatose e fibrose.

O tratamento do HBV em pacientes com HIV é indicado nos casos de infecção crônica pelo HBV (mais de seis meses de doença) com evidência de hepatite ou cirrose com o objetivo de eliminar o vírus ou suprimir a sua replicação, induzindo à remissão do processo inflamatório no fígado, progressão para a cirrose e carcinoma hepatocelular (MELLO, PIRES & GRIPP, 2008). Neste estudo não foi pesquisado a fundo a resposta ao tratamento do HBV nos coinfectados, sendo investigado somente se o paciente estava em tratamento para o HBV. Até o momento da coleta dos dados, apenas 12 pacientes estavam em tratamento com esquema terapêutico composto por lamivudina e tenofovir, além de pelo menos uma terceira droga para controle do HIV.

Com o aumento da transmissão do HIV entre os UDI também houve um crescimento nos casos de HCV entre esses pacientes, pois a transmissão do HCV ocorre, principalmente, pela via parenteral (CARVALHO *et al.*, 2009). Porém, vale ressaltar que no Brasil, a prevalência de coinfeção pelo HIV e HCV pode variar de acordo com os fatores de risco de contágio do HCV e do HIV (AMARAL *et al.*, 2007).

Quando analisado os resultados da investigação do HCV observou-se que muitos pacientes não haviam completado a investigação para HCV com o teste de PCR qualitativo para HCV quando o anti-HCV foi positivo. Isso pode ser reflexo da baixa prevalência de pacientes de alto risco para coinfeção HIV/HCV, como usuários de drogas injetáveis, entre a população geral de pacientes atendidos

nestes serviços, de modo que os testes sorológicos para hepatites virais não foram solicitados pelos médicos.

Outro fato é que, como dito anteriormente, até o ano de 2010 o “Consenso Brasileiro de Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV” (BRASIL, 2008b) vigente, ainda era do ano de 2008, que não contemplava a introdução precoce da TARV nos pacientes coinfectados. Somente em 2010 foi publicado um adendo a este consenso, recomendando o tratamento precoce do HIV em indivíduos com coinfecção por HCV e HBV. A partir desta publicação, os serviços começaram a introduzir em suas rotinas protocolos que visavam a investigação sistemática das coinfecções.

A taxa de coinfecção HIV-1/HCV encontrada no grupo em estudo é considerada baixa (4%) se comparado com outras regiões do Brasil como, por exemplo, Vitória - ES (17,5%) e Porto Alegre - RS (38,2%). Em outro estudo conduzido em São Paulo em torno de 17,7% dos pacientes são coinfectados com HIV-1 e HCV (AGUIAR *et al.*, 2005). A diferença entre as regiões do país reflete a realidade dos pacientes de cada região que podem ser atribuídas às diferentes formas de transmissão do HIV-1/HCV (CARVALHO *et al.*, 2006; MOTTA *et al.*, 2004; TOVO *et al.*, 2006), como citado anteriormente.

O tempo de diagnóstico do HCV é inferior ao tempo de diagnóstico do HIV-1. Isto ocorre porque muitos pacientes tiveram as hepatites investigadas somente após o surgimento de sintomas, pois a infecção pelo HCV pode ser clinicamente silenciosa até estágios bastante avançados de doença, levando a um diagnóstico tardio, ou então, em outros casos que nunca houve sintomas, a doença foi investigada somente após a implantação do “Consenso Brasileiro de Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV” no ano de 2010 (BRASIL, 2008b).

A genotipagem do HCV tem grande importância clínica tanto para o prognóstico quanto para o tratamento, pois há dados indicando um pior prognóstico da doença, quanto ao genótipo 1. Sendo assim, a genotipagem do HCV pode ser utilizada para avaliar o prognóstico e planejar o tratamento de pacientes infectados pelo HCV (CARVALHO *et al.*, 2009).

Os genótipos dos pacientes com HCV do presente estudo são compatíveis com a literatura que mostra a prevalência do genótipo 1, seguido do genótipo 3 que são os mais frequentes no Brasil (AGUIAR *et al.*, 2005; CARVALHO *et al.*, 2009).

A doença hepática é uma das causas mais importantes de admissões hospitalares e morte de pacientes coinfectados com HIV e HCV, em que a gravidade da necrose hepatocelular, inflamação portal e fibrose parecem ser mais intensas. Como citado anteriormente, estudos mostram que a coinfecção HIV/HCV pode ser um fator importante para a progressão para a cirrose em casos de HIV/HCV (BRAGA *et al.*, 2006). Os achados de biópsia do presente estudo confirmaram estes dados, pois observou-se um índice elevado de pacientes coinfectados HIV/HCV que tiveram indicação para realização de biópsia hepática, apresentando dano hepático importante como fibrose hepática seguido de outras alterações hepáticas como esteatose.

A doença hepática também foi investigada por realização de ultrassom abdominal em 39 pacientes coinfectados HIV/ HCV onde a maioria apresentaram resultado normal. Deve-se destacar, no entanto, que a ultrassonografia demonstra achados patológicos, de modo geral, apenas em casos de doença hepática avançada, de modo que resultado normal não descarta a presença de doença hepática crônica (KUTCHER *et al.*, 1998).

Nem todos os pacientes coinfectados por HIV e HCV receberam tratamento para o HCV, porém, entre os pacientes que fizeram o tratamento, a taxa de resposta virológica sustentada encontrada foi de 32%. Esses resultados se mostraram idênticos aos resultados da pesquisa de ALVES *et al.*, 2003. O restante dos pacientes que não respondeu ao tratamento do HCV provavelmente evoluiu ou tem grandes chances de evoluir com fibrose hepática e potencial cirrose, falência hepática e carcinoma hepatocelular (OPERSKALSKI; KOVACS, 2011).

Ao cruzar os dados da resposta ao tratamento com os genótipos de cada paciente, percebeu-se que a maioria dos pacientes possuía o genótipo 1 do HCV que tem uma pior resposta ao tratamento do que os outros genótipos, com a RVS elevada, porém não mais elevada que a resposta nula. Em contrapartida, os pacientes que possuem o genótipo 3a possuem RVS elevada, mas com menor incidência de resposta nula. Segundo Carvalho *et al.*, (2009) o genótipo 1 está relacionado a um pior prognóstico do HCV, destacando a importância de se realizar a genotipagem do HCV para melhorar a avaliação e planejamento terapêutico para esses pacientes.

A organização dos subtipos do HIV-1 é muito utilizada nos estudos de epidemiologia molecular. Para evitar erros relativos a genomas recombinantes, o

método de escolha para a classificação do HIV-1 em subtipos é a análise filogenética do genoma completo do vírus que pode ser demorada e ter um alto custo. Uma alternativa é o sequenciamento e a análise filogenética de pequenos fragmentos do genoma viral (PINTO & STRUCHINER, 2006).

Para determinação do subtipo do HIV-1 responsável pela infecção nos pacientes estudados, a estratégia foi amplificar mais de uma região do genoma, considerando as regiões estratégicas (MAGIORKINIS *et al.*, 2003) e a circulação de formas recombinantes do HIV-1 na América do Sul (RUCHANSKY *et al.*, 2009). Para este fim foram amplificadas as regiões *gag* e *vpu-env* do genoma do HIV-1, utilizando a técnica de *Nested* PCR.

Mesmo com resultado indetectável na PCR, foi descartado a possibilidade de insucesso devido a problemas relacionados à técnica ou ao processamento das amostras, pois alguns desses pacientes possuíam quantificação do RNA do HIV-1 detectável no plasma, e todas as amostras testadas tiveram PCR detectável no teste da β -globina, mostrando que as técnicas utilizadas são apropriadas.

A ausência da amplificação pode ser explicada devido a intensa taxa de mutação do HIV que, muitas vezes, ocorre no sítio de anelamento dos *primers*, impossibilitando a amplificação por PCR. As sequências de má qualidade ocorrem pela coexistência de populações virais, o que impossibilita seu sequenciamento (CORVINO *et al.*, 2007). Possivelmente, por tal motivo, a subtipagem do HIV-1 pôde ser concluída em 34 das 49 amostras analisadas.

Estudos prévios mostram que a cidade de Curitiba apresenta maior prevalência do subtipo B seguido do C (RABONI *et al.*, 2010), no entanto, no presente estudo encontrou-se uma maior frequência dos subtipos recombinantes C e BC, sendo que os subtipos BF e B foram encontrados em menor proporção. Estes resultados podem sugerir que os indivíduos incluídos neste estudo apresentam uma característica própria dos subtipos.

Na distribuição dos subtipos do HIV-1 em pacientes coinfectados com HBV foram encontrados os subtipos BF, B e C, mas quando se refere a coinfeção HIV e HCV o subtipo BC foi o mais prevalente. Em algumas amostras a caracterização dos subtipos não foi idêntica para os dois genes em questão e a determinação destes foi feita com base no maior percentual de homologia dos subtipos de amostras de referência disponíveis em bancos de dados internacionais.

Com relação ao comportamento de risco entre os pacientes observou-se que, assim como os pacientes que não foram incluídos no teste de subtipagem do HIV, houve um percentual elevado de pacientes que relatou ser heterossexual não confirmando, que este grupo possui o comportamento sexual como fator de risco importante para a disseminação do HIV-1 e seus subtipos, porém, não houve associação dos subtipos com o comportamento sexual dos indivíduos.

Entre os indivíduos que participaram da subtipagem do HIV-1, a maioria relatou o uso de drogas (55,8%) sendo que os UDI representaram 41%, e ao contrário de relatos sobre a população da cidade de Curitiba, que diz que o subtipo C é o mais frequente entre os UDI (RABONI *et al.*, 2010), este estudo relata maior percentual do subtipo BC entre os UDI, tanto nos coinfectados. Esta diferença nos subtipos entre pacientes coinfectados pode sugerir que as vias de transmissão podem interferir no subtipo do HIV-1, uma vez que retratam populações de diferentes perfis. Porém, este resultado corrobora com os resultados de um estudo realizado com pacientes do Rio Grande de Sul, onde os pacientes HIV coinfectados UDI possuem o subtipo BC com maior prevalência (SIMON *et al.*, 2010).

Uma observação importante com relação ao subtipo do HIV-1 é que o subtipo não está interferindo na resposta ao tratamento do HIV, pois, com relação a avaliação clínica dos pacientes incluídos nos testes de genotipagem observou-se que estes indivíduos possuem boa adesão ao tratamento com quase todos os pacientes (90%) em uso de TARV e com boa resposta, pois, segundo as dosagens de carga viral, 67,6% (23/35) dos pacientes apresentavam resultados indetectáveis, além de apresentarem boa contagem de LT CD4⁺ (485 células/mm³, IQR 306-630).

Este é o primeiro estudo que fornece uma visão sobre a dinâmica do HIV entre a população de pacientes coinfectados por HIV/HBV e HIV/HCV atendidos no HC-UFPR e mostra a prevalência de diferentes subtipos do HIV entre esses pacientes. A correlação entre os subtipos do HIV, dados demográficos e epidemiológicos são fundamentais para determinar melhores medidas preventivas. São necessários mais estudos sobre a variabilidade genética do HIV, não apenas para a compreensão das origens virais e sua evolução, mas também para as consequências desta variabilidade na realização de testes de diagnóstico e na resposta a TARV.

CONCLUSÕES

Este foi o primeiro estudo a avaliar os dados demográficos e investigar o perfil clínico e epidemiológico da coinfeção do HIV e hepatites B e C nos pacientes atendidos nos ambulatorios de referência do Hospital de Clínicas – UFPR, revelando que a maioria dos pacientes é do gênero masculino com mediana de aproximadamente 46 anos, de baixa a média escolaridade, heterossexuais com parceiro fixo e usuários de drogas, que é o principal fator de risco observado para a coinfeção.

Observou-se que em torno de 6% dos pacientes HIV positivo que fazem o acompanhamento nos ambulatorios deste hospital foram investigados para as hepatites virais B e C, demonstrando uma maior prevalência da coinfeção HIV/HCV em relação à coinfeção HIV/HBV, além de identificar que nem todos os pacientes que têm marcador sorológico positivo para HCV realizam a PCR para a confirmação do diagnóstico deste.

Constatou-se que o tempo de diagnóstico do HIV é maior que o das hepatites B e C contribuindo para uma pior resposta imunológica e para uma maior taxa de evolução para a doença hepática.

Outro achado corresponde ao tempo de diagnóstico das hepatites B e C, geralmente tardio em relação ao diagnóstico do HIV, sendo realizado em estágios avançados de acometimento hepático, provavelmente somente após o surgimento dos sintomas, limitando a resposta à terapia. A ausência de um grupo controle monoinfectado pelo HBV ou HCV limitou a capacidade de confirmação de tais suposições neste estudo.

Em relação aos subtipos do HIV nos pacientes coinfectados tanto por HBV quanto por HCV predominou o subtipo C. Este é um perfil diferente dos relatados para a cidade de Curitiba, em que o subtipo mais encontrado era o B.

Quase todos os pacientes coinfectados apresentavam uso da terapia antirretroviral, sendo que a maioria apresentava valores de carga viral do HIV indetectável com aumento de LT CD4+, sugerindo que esses pacientes têm boa adesão ao tratamento para o HIV e apresentando bom controle da infecção.

Com relação à resposta ao tratamento das hepatites B e C observou-se que os pacientes coinfectados não possuem uma boa resposta ao tratamento com pouco mais de 30% dos pacientes com resposta virológica sustentada para o HCV. Com

relação à coinfecção HIV/HBV observou-se que um significativo percentual de indivíduos deste grupo pode estar com um esquema terapêutico inadequado.

Observou-se que a maioria dos pacientes analisados nos testes de subtipagem teve um bom controle da carga viral demonstrada pelos valores de carga viral indetectável.

A correlação da variabilidade dos subtipos do HIV com os fatores de risco para a aquisição das coinfecções é compatível com o citado pela literatura que diz que o subtipo mais presente entre os pacientes UDI é o subtipo C confirmando os relatos de que entre os pacientes UDI existe a prevalência do subtipo C do HIV-1.

Para este estudo é necessário uma melhor caracterização da variabilidade genética do HIV-1 para analisar seu impacto na evolução clínica dos pacientes coinfectados.

REFERÊNCIAS

ACRAS, R. N; PEDROSO, M. L; CAUM, L. C; PISANI, J. C. AMARANTE, H. M; CARMES, E. R. The sustained response rates for chronic hepatitis C patients undergoing therapy with the several interferons and ribavarins supplied by Brazilians Health Ministry is comparable to those reported in the literature. **Arquivo de Gastroenterologia**, n. 41, p. 3-9, 2004. .

AGUIAR, J. I; UEHARA, S. N; OLIVEIRA, P. A; COSTA, M. P; DAHER, R. R; SILVA, B. S; VASCONCELLOS, R. L; SANTOS, V. Preliminary evaluation of the association of immunodeficiency human virus (HIV) with the hepatitis type B and C in two centers of inquiry of Brazil. **Revista Panamericana de Infectologia**, v. 7, n. 2, p. 29-32, 2005.

ALVES PEDROSO, M. L; BOLDT, A. B; PEREIRA-FERRARI, L; STEFFENSEN, R; STRAUSS, E; JENSENIUS, J. C; IOSHII, S. O; MESSIAS-REASON, I. Mannan-binding lectin MBL2 gene polymorphism in chronic hepatitis C: association with the severity of liver fibrosis and response to interferon therapy. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 152, p. 258 - 64, 2008.

AMARAL, I. S. A; ALMEIDA, M. L; ALVES, F. T; MÓIA L. J. M. P; CONDE, S. R. S. S. Epidemiology of HIV/HCV co-infected patients attended at Função Santa Casa de Misericórdia do Pará. **Revista Paraense de Medicina**, v. 21, n. 1, p. 15-20, 2007.

ARIËN, K. K; VANHAM, G; ARTS, E.L. Is HIV-2 evolving to a less virulent form in humans. **Nature Publishing Group**, v. 5, p. 141-151, 2007.

BARTENSCHLAGER, R; LOHMANN, V; Replication of hepatitis C vírus. **Journal of General Virology**, v. 81, p. 1631-1648, 2000.

BASTOS, F. I; SZWARCOWALD, C. L. Aids and pauperization: principal concepts and empirical evidence. **Caderno de Saúde Pública**, v. 16, n. 1, p. 65 - 76, 2000.

BELLO, G; CASADO, C; SANDONIS, V; ALONSO-NIETO, M; VICARIO, J. L; GARCÍA, S; HERNANDO, V; RODRÍGUEZ, C; ROMERO, J; LÓPEZ-GALÍNDEZ, C. A subset of human immunodeficiency virus type 1 long-term non-progressors is characterized by the unique presence of ancestral sequences in the viral population. **Journal of General Virology**, v. 86, p. 355–364, 2005.

BELLO, G; GUIMARÃES, M. L; PASSAES, C. P. B; ALMEIDA, S. E. M; VELOSO, V. G; MORGATO, M. G. Short Communication: Evidences of recent decline in the expansion rate of the HIV type 1 subtype C and CRF31_BC epidemics in southern Brazil. **Aids Research Human Retroviruses**, v. 25, p.1065-1069, 2009.

BENHAMOU, Y; BOCHET, M; DI MARTINO, V. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. **Hepatology**, p. 30-1054, 1999.

BLACKARD, J. T, COHEN, D. E, MAYER, K. H. Human Immunodeficiency Virus Superinfection and Recombination: Current State of Knowledge and Potential Clinical Consequences. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, p. 1108-1114, 2002.

BLACKARD, J. T ; SMEATON, L ; HIASA, Y; HORIIKE, N; ONJI, M; JAMEISON, D. J; RODRIGUEZ, I; MAYER, K.H; CHUNG, R. T. Detection of hepatitis C virus (HCV) in serum and peripheral-blood mononuclear cells from HCV-monoinfected and HIV/HCV-coinfecting persons. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 65, p. 192-258, 2005.

BOUCHARD, M. J., SCHNEIDER, R. J. The Enigmatic X Gene of Hepatitis B Virus. **Journal of Virology**, v. 78, n. 23, p. 12725-12734, 2004.

BRAGA, E. L; LYRA, A. C; OLIVEIRA, F. N; NASCIMENTO, L; SILVA, A; BRITES, C; MARBAK, R; LYRA, L. G. C; NETO, M. L. R; SHAH, K. A. Clinical and Epidemiological Features of Patients with Chronic Hepatitis C Co-infected with HIV. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 17-21, 2006.

BRANDÃO, A. B. M, FUCHS, S. C, SILVA M. A. A, EMER, L. F. Diagnóstico da Hepatite C na prática médica: revisão da literatura. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 9, n. 3, p. 161-168, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hepatites virais: o Brasil está atento**. Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hepatites virais: o Brasil está atento**. Série B, textos básicos do Ministério da saúde. Brasília, 2008a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV**. 7.ed. Brasília, 2008b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST. Aids e hepatites virais. **Boletim epidemiológico: hepatites virais**. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de AIDS e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico**. Brasília, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C e Coinfecções - Manejo do paciente infectado cronicamente pelo genótipo 1 do hcv e fibrose avançada**. Suplemento 1. Brasília, 2013.

BRINDEIRO, R. M; DIAZ, R. S; SABINO, E. C; MORGADO, M. G; PIRESE, I. L; BRIGIDO, L; DANTAS, M. C; BARREIRA, D; TEIXEIRA, P. R; TANURI, A. The Brazilian Network for Drug Resistance Surveillance. Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance (HIV-BResNet): A survey of chronically infected individuals. **AIDS**, v. 17, p.1063–1069, 2003.

BRITO, A. M; CASTILHO, E. A.; SZWARCOWALD, C. L. AIDS e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifaceada. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 2; p. 207-217, 2000.

BRUNO, S; FACCIOTTO, C. The natural course of HCV infection and the need for treatment. **Annals Hepatology**, v. 7, p. 114-119, 2008.

CABRAL, V. P.; CUNHA, C. B.; MAGALHAES, E. F. L.; PINTO-NETO, L. F., COUTO- FERNANDEZ, J. C.; DIETZE, R.; MORGADO, M. G.; RIBEIRO-RODRIGUES, RODRIGO. Human immunodeficiency virus type-1 subtypes of infected patients in Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 8, p. 881-885, 2006.

CDC, MMWR. **USPHS/IDSA guidelines for the prevention of opportunistic infections in persons infected with human immunodeficiency virus: U.S. Public Health Service (USPHS) and Infectious Diseases Society of America (IDSA). 1999**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr4810a1.htm>>. Acesso em 13/10/2010

CARBONERO, L. M; POVEDA, E. Hepatitis B Virus and HIV Infection. **Seminars Liver Disease**, v. 32, p. 114-119, 2012.

CARR, A; COOPER, D. A. Restoration of immunity to chronic hepatitis B infection in HIV-infected patient on protease inhibitor. **The Lancet**, p. 349-995, 1997.

CARVALHO, F. H. P; SILVA, A. N. M. R; MELO, H. R. L; COÊLHO, M. R. D. Prevalence anti-HCV among HIV seropositive patients. **Revista Paraense de Medicina**, v. 20, n. 3, p. 11-13, 2006.

CARVALHO, F. H. P; COÊLHO, M. R. C. D; VILELLA, T. A. S; SILVA, J. L. A; MELO, H. R. L. HIV/HCV coinfection at an university hospital in Recife, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 1, p. 133-139, 2009.

CASADADO, C; GARCÍA, S; RODRÍGUEZ, C; ROMERO, J; BELLO, G; LÓPEZ-GALÍNDEZ, C. Different evolutionary patterns are found within human immunodeficiency virus type 1-infected patients. **Journal of General Virology**, v. 82, p.2495–2508, 2001.

CONJEEVARAM, H. S; LOK, A. S. F. Management of Chronic Hepatitis B. **Journal of Hepatology**, v. 38, p. S90-S103, 2003.

CONTE, V. P. Hepatite crônica por vírus C Parte1. Considerações gerais. **Arquivo Gastroenterol**, v. 37, n. 3, p. 187-194, 2000.

CORVINO, S. M; HENRIQUES, R. M. S; GROTO, R. M. T; PARDINI, M. I. M. C. HIV/HCV Co-infection in patients from Botucatu and region (Brazilian cities). **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 10, n. 4, p. 537-543, 2007.

CHERUVU, S; MARKS, K; TALAL, A. H. Understanding the Pathogenesis and Management of Hepatitis B/HIV and Hepatitis B/Hepatitis C Virus Coinfection. **Clinics in Liver Disease**, v. 11, p. 917-943, 2007.

DEMATHE, A; BARNABÉ, D. G; GARCIA, J. F; NUNES, C. M; MIYAHARA G. I. Comparison between two methods for human papillomavirus DNA detection in lip squamous cell carcinoma. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 2, p. 85-90, 2010.

DOURADO, I; VERAS, M. A. S. M; BARREIRA, D; BRITO, A. M. Tendências da epidemia de Aids no Brasil após a terapia anti-retroviral. **Revista Saúde Pública**, v. 40, p. 9-17, 2006.

FERNÁNDEZ-MONTERO, J. V.; SORIANO, V. Management of hepatitis C in HIV and/or HBV coinfecting patients. **Best Practice Research Clinical Gastroenterology**, v. 26, n.1, p. 517–530, 2012.

FERREIRA, M. S. Diagnosis and treatment of hepatitis B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 4, p. 389-400, 2000.

FERREIRA, C. T.; SILVEIRA, T. R. Viral Hepatitis: epidemiological and preventive aspects. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 4, p. 473 – 487, 2004.

FERREIRA, J. L. P.; THOMAZ, M.; RODRIGUES, R.; HARRAD, D.; OLIVEIRA, C. M.; OLIVEIRA, C. A. F.; BATISTA J. P. G.; ITO, T. S.; BRIGIDO, L. F. M. Molecular characterisation of newly identified HIV-1 infections in Curitiba, Brazil: preponderance of clade C among males with recent infections. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 800-808, 2008.

FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S. Advances in the treatment of hepatitis B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 4, p. 451 – 462, 2007.

FOCACCIA, R. **Tratado de Hepatites Virais**. 2ª. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2007.

FONSECA, J. C. F. Natural history of chronic hepatitis B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 6, p. 672 – 677, 2007.

FREITAS, A. J. S. **Hepatites virais: o Brasil está atento**. Série B, textos básicos do Ministério da saúde. 3ª edição. Brasília-DF, 2008.

GABE, C.; LARA, A. M. Prevalence of anti-HCV, anti-HIV and co-infection HCV/HIV in a female prison of the State of Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40, n. 2, p. 87-89, 2008.

GANEM, D.; PRINCE, A. M. Hepatitis B Virus Infection — Natural History and Clinical Consequences. **The New England Journal of Medicine**, v., 350, n. 11, p. 1118 – 1129, 2004.

GAO, F.; BAILES, E.; ROBERTSON, D. L.; CHEN, Y.; RODENBURG, C. M.; MICHAEL, S. F.; CUMMINS, L. B.; ARTHUR, L. O.; PEETERS, M.; SHAW, G. M.; SHAP, P. M.; HAHN, B. H. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. **Nature**, v. 397, p. 436 – 441, 1999.

GARCIA, S.; SOUZA, F. M. Vulnerabilities to HIV/AIDS in the Brazilian context: genders, race and generation inequities. **Saúde e Sociedade**, v. 19, n. 2, p. 9 – 20, 2010.

GERETTI A. M; HARRISON, L; GREEN, H; SABIN, C; HILL, T; FEARNHILL, E; PILLAY, D; DUNN, D. Effect of HIV-1 Subtype on Virologic and Immunologic Response to Starting Highly Active Antiretroviral Therapy. **Clinical Infectious Disease**, v. 48, p. 1296–1305, 2009. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/pages/LUMIS624DE984PTBRIE.HTM>>. Acesso em: 13/10/2010.

GROTTO, R. M. T; PARDINI, M. I. M. C. Molecular Biology of the HIV-1 and genetics of human resistance to AIDS. **Arquivo de Ciências da Saúde**, v. 13, n. 3, p 61-64, 2006.

GRMEK, M. O enigma do aparecimento da Aids. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 9, p. 229 – 239, 1995.

HANNO, A. F. F; MOHIEDEEN, K. M; ALSHAYEB, A. F; DEGHEDY, A. HCV RNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) as a predictor of the response to antiviral therapy in chronic hepatitis C. **Alexandria Journal of Medicina**, 2013.

HERNANDEZ, M. D; SHERMAN, K. E. HIV/HCV Coinfection Natural History and Disease Progression, A Review of The Most Recent Literature. **National Institutes of Health**, v, 6, n. 6, p. 478-482, 2011.

HOFFMANN, C; THIO, C. L. Clinical implications of HIV and hepatitis C co-infection in Asia and Africa. **Lancet Infectious Disease**, v. 7, p. 402-409, 2007.

KLENERMAN, P; KIM, A. HCV-HIV Confection: Simple Messages from a Complex Disease. **Plos Medicina**, v. 4, p. 1608-1614, 2007.

KONOPNICKI, D; MOCROFT, A; WIT, S; ANTUNES, F; LEDERGERBER, B; KATLAMA, C; ZILMER, VELLA, S; KIRK, O; LUNDGREN, J. D. Hepatitis B and HIV: prevalence, AIDS progression, response to highly active antiretroviral therapy and increased mortality in the EusoSIDA cohort. **AIDS**, v. 19, n. 6, p. 593-601, 2005.

KORBER, B; GASCHEN, B; YUSIM, K; THAKALLAPALLY, R; KESMIR, C; DETOURS, V. Evolutionary and immunologic implications of contemporary HIV-1 variation. **British Medical Bulletin**, v.58, p. 19-42, 2001.

KUTCHER R *et al.* Comparison of sonograms and liver histologic findings in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J. Ultrasound Med.*, New York, v. 17, n.1, p.321-325, 1998.

LACOMBE, K.; ROCKSTROH, J. HIV and viral hepatitis coinfections: advances and challenges. **Gut**, London, v.61, n.1, p. 47-58, 2012.

LARSON, A. M; CARITHERS, R. L. Hepatitis C in clinical practice. **Journal of Internal Medicine**, v. 249, p. 111-120, 2001.

LASKUS, T; RADKOWSKI, M; PIASEK, A, et al. Hepatitis C virus in lymphoid cells of patients coinfectd with human immunodeficiency virus type 1: evidence of active replication in monocytes/macrophages and lymphocytes. **Journal of Infectious Disease**, p. 181-442, 2000;

LEITNER, T; FOLEY, B; HAHN, B.H; MARZ, P; McCUTCHAN, F; MELLORS, J.W; WOLINSKY, S; KORBER, B. HIV Sequence Compendium. Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory. **Los Alamos, NM**, 2000. 2003. LA-UR number 04-7420.

LINDENBACH, B. D; RICE, C. M. Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. **Nature**, v. 436, p. 933-938, 2005.

LOPES, V. G. S. HIV – Perfil da Atual Transmissão Heterossexual no Brasil. **Jornal Brasileiro de DST**, v. 10, n. 6, p. 41-43, 1998.

LOS ALAMOS HIV. Pontos de referência do genoma do HIV-1, estirpe HXB2. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/MAP/landmark.html>> Acesso em: 10/01/2014.

MACHADO, A; DANTAS, T; DANTAS, D; PARANÁ, R. HIV/HBV Co-infection. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 76, p. S69-S72, 2006.

MARCHESINI, A. M; PRÁ-BALDI, Z. P; BUENO, R; BUCHALLA, C. M. Hepatitis B and C among injecting drug users living with HIV in São Paulo, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 2, p. 57-63, 2007.

MARTINS, R. M. B; TELES, S. A; FREITAS, N. R; CASTRO, A. R. C. M; SOUTO, F. J. D; MUSSI, A; AMORIM, R. M. S; MARTINS, C. R. F. Distribution of Hepaatitis C vírus genotypes among blood donors from mid-west region of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 1, p.53-55, 2006.

MacPARLAND, S. A, PHAM, T. N. Q, GUY, C. S, MICHALAK, T. I. Hepatitis C Virus Persisting After Clinically Apparent Sustained Virological Response to Antiviral Therapy Retains Infectivity In Vitro. **Hepatology**, v. 49, n. 5, p. 1431-1441, 2009.

McCOY, C. B; MATSCH, L. R; MESA, F. C; ARHEART, K. L; MESSIAH, S. E; KATZ, D; SHAPSHK. The Prevalence of Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis C Virus among Injection Drug Users Who Use High Risk Inner-city Locales in Miami, Florida. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 8, p. 789-793, 2004.

McGOVEN, B. H. **Epidemiology, clinical manifestations, and diagnosis of hepatitis B in the HIV-infected patient. 2010a** (www.uptodate.com.br)

McGOVEN, B. H. **Epidemiology, natural history, and diagnosis of hepatitis C in the HIV-infected patient. 2010b** (www.uptodate.com.br)

MELEGARI, M., WOLF, S. F., SCHNEIDER, R. J. Hepatitis B Virus DNA Replication Is Coordinated by Core Protein Serine Phosphorylation and HBx Expression. **Journal of virology**, v. 79, n. 15, p. 9810 – 9820, 2005.

MELO, E. B; BRUNI, A. T; FERREIRA, M. M. C. Hiv-Integrase Inhibitors: Potential Pharmacological Approach For Aids Therapy Aids. **Química Nova**, v 29, p. 555-562, 2006.

MELLO, C. E. B; PIRES, M. M. A; GRIPP, K. A co-infecção pelo vírus da Hepatite B (HBV) e da imunodeficiência Humana (HIV) – Aspectos Clínicos e Terapêuticos. **Prática Hospitalar**, n. 56, p. 97-1-06, 2008.

MENDES-CORRÊA, M. C; MARTINS, L. G; TENORA, S; LEITE, O. H; LEITE, A. G; CAVALCANTE, A. J. W; SHIMOSE, M; SILVA, M. H; UIP, D. E. Barriers to treatment of hepatitis C in HIV/HCV coinfecting adults in Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Disease**, v. 14, n. 3, p. 237-241, 2010

MIURA, I. K.; PUGLIESE, R. P. S.; PASTORINO, A. C.; KOSH, V. H. K. Vertical Transmission of viral hepatitis A, B, non-A, non B, and delta. Epidemiology, pathology and prevention. **Pediatrics (São Paulo)**, v. 13, p. 85 - 94, 1991.

NUNES, T., S., O.; LACET, C. Natural history of chronic hepatitis B. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 7, p 124 – 131, 2009.

OPERSKALSKI, E. A; KOVACS, A. HIV/HCV Co-infection: Pathogenesis, Clinical Complications, Treatment, and New Therapeutic Technologies. **Current HIV/AIDS Reports**, v. 8, p. 12-22, 2011.

PAVAN, M. H. P; AOKI, F. H; MONTEIRO, D. T; GONÇALVES, N. S. L; ESCANHOELA, C. A. F; GONÁLVES, F. L. J. Viral Hepatitis in patients infected with Human Immunodeficiency Virus. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 7, n. 4, p.253-261, 2003.

PEÇANHA, E. P; ANTUNES, O. A. C; Estratégias farmacológicas para a terapia anti-aids. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1108-1116, 2002.

PEDROSO, M. L. A; BOLDT, A. B. W; FERRARI, L. P; STEFFENSEN, R; STRAUSS, E; JENESIUS, C. IOSHII, O. S; REASON, I. M. Mannan-binding lectin *MBL2* gene polymorphism in chronic hepatitis C: association with the severity of liver fibrosis and response to interferon therapy. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 152, p. 258-264, 2008.

PINTO, A. C. S; PINHEIRO, P. N. C; VIEIRA, N. F.C; ALVES, M. D. S. Understanding the aids pandemia in the last 24 years. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v 19, n. 1, p. 45-50, 2007.

PINTO, M. E; STRUCHINER C. J. A diversidade de HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia. **Caderno de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 473-484, 2006.

PIOT, P; BARTOS, M; GHYS, P. D; WALKER, N; SCHWARTLÄNDER B. The global impact of HIV/AIDS. **Nature Medicine**, v. 410, p 968 -973, 2001.

PLANTIER, J. C; LEOZ, M; DICKERSON, J. E, Oliveira, F, CORDONNIER, F; LEMÉE, V, DAMOND, F, ROBERTSON D, L; SIMON F. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. **Nature Medicine**, v. 15, p. 871-872, 2009.

PUOTI, M; AIROLDI, M; BRUNO, R; ZANINI, B; SPINETTI, A; PAZZOLI, C; PATRONI, A. CASTELLI, F; SACCHI, P; FILICE, G; CAROSI, G. Hepatitis B virus co-infection in human immunodeficiency virus-infected subjects. **Journal AIDS Reviel**, v. 4, p. 27-35, 2002.

POYNARD, T; MARCELLIN, P; LEE, S. S; NIEDERAU, C; MINUK, G. S; IDEO, G; BAIN, VICENT; HEATHCOTE, J; ZEUZEM, S; TREPO, C; ALBRECHT, J. Randomized trial of interferon $\alpha 2b$ plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon $\alpha 2b$ plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus [abstract]. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 352, p. 1426-1432, 1998.

RABONI, S. M; ALMEIDA, S.M; ROTTA, I; RIBEIRO, C. E. L; ROSARIO, D; VIDAL, L. R; NOGUEIRA, M. B; RIEDEL, M; WINCHESKI, M. G; FERREIRA, K. A; ELLIS, R. Molecular Epidemiology of HIV-1 Clades in Southern Brazil. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 8, p.1044-49, 2010.

RAIMONDO, G. HBV Infection. **Seminars in Immunopathology**., Berlin, v. 35, p. 39-52, 2010.

RANJBAR, R; DAVARI, A; IZADI, M; JONAI, N; ALAVIAN, SM.HIV/HBV Co-infections: Epidemiology, Natural History, and Treatment: A review article. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 13, n. 12, p. 855-862, 2011.

REICHE, E. M. V; BONAMETTI, A. M; MORIMOTO, H. K; MORIMOTO, A. K; WIECHEMANN, S. L; MATSUO, T; REICHE, F. V; VOGLER, I.H. Epidemiological, immunological and virological characteristics, and disease progression of HIV-1/HCV-co-infected patients from a southern Brazilian population. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 21 p. 387-395, 2008.

RUCHANSKY, DORA; ARBIZA, JUAN; GALÍNDEZ C. L; RUSSI, J. C. Variabilidad genética del virus de inmunodeficiencia humana em Uruguay. Montevideo, Uruguay, 2009. Tese (Doutorado em Biología, subárea Microbiología)_ Universidad de la República.

SALEMI, M; OLIVEIRA, T; SOARES, M. A; PYBUS, O; DUMANS, T. A; VANDAMME, A-M; TANURI A; CASSOL, S; FITCH, W. M. Different Epidemic Potentials of the HIV-1B and C Subtypes. **Journal of Molecular Evolution**, v. 60, p. 598-605, 2005.

SANDONÍS, V; CASADO, C; ALVARO, T; PERNAS, M; OLIVARES, I; GARCÍA, S; RODRÍGUEZ, C; ROMERO, J; LÓPEZ-GALÍNDEZ, C. A combination of defective DNA and protective host factors are found in a set of HIV-1 ancestral LTNP. **Virology**, v. 391, p. 73-82, 2009.

SAVI, M. A; SOUZA, T. R A. Dinâmica da interação entre o sistema imunológico e o vírus HIV. **Revista Militar de Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 3, p. 15-26, 1999.

SILVA, A. C. M; BARONE, A. A. Risk factors for HIV infection among patients infected with hepatitis C virus. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n. 3, p. 482-488, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, I Consensus for the management and treatment of hepatitis B. **Brazilian Journal Infections Diseases**, Salvados, v.11, n.1, fev. 2007.

SOUZA, M. G; PASSOS, A. D. C; MACHADO, A. A; FIGUEIREDO, J. F. C; ESMERALDINO, L. E. HIV and hepatitis B vírus co-infection: prevalente and risk factors. **Ravista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 5, p. 391-395, 2004.

STEFFY, K; STALL, F. W. Genetic regulation of human immunodeficiency virus. **American Society for Microbiology**, v. 55, n. 2, p 193-205, 1991.

STRAUSS, E. Hepatite C. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 1, p. 69-82, 2001.

STRADER, D. B; WRIGHT, T; THOMAS, D. I; SEEFF, L. B. Diagnosis, Management, and Treatment of Hepatitis C. **Hepatology**, v. 39, n. 4 p. 1147-1171, 2004.

THOMSON, M. M; NÁJERA, R. Molecular epidemiology of HIV-1 variants in the global Aids pandemic: an Update. **AIDS Reviews**, v. 7, p. 210-224, 2005.

TOLEDO, P. V. M; CARVALHO, D. S; ROSSI, S. G; BRINDEIRO, R; QUEIROZ-TELLES, F. Genetic diversity of human immunodeficiency vírus-1 isolates in Paraná, Brazil. **Brazilian Journal Infections Diseases**, v. 14 p. 230-236, 2010.

TOVO, C. V; SANTOS, E. MATTOS, A. Z; MATTOS, A. A; SANTOS, B. R; GALPERIM, B. Avaliação da imunidade celular nos pacientes co-infectados pelo vírus da hepatite C e vírus da imunodeficiência humana. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 44, n. 2, p. 113-117, 2007

UNAIDS – Report on the global AIDS epidemic, 2010. Disponível em: http://www.unaids.org/documents/20101123_GlobalReport_em.pdf Acesso em: 02/02/2014.

UNAIDS – Report on the global AIDS epidemic, 2013. Disponível em: http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf. Acesso em: 02/02/2014.

UNAIDS – Report on the global AIDS epidemic, 2013. Disponível em: http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/201309_epi_core_en.pdf. Acesso em: 16/06/2014.

VASCONCELOS, R. R; TENGAN, F. M; CAVALHEIRO, N. P; IBRAHIM, K; PEREIRA, H; BARONE, A. A. Factors associated with severe evaluative forms of chronic infection with hepatitis C virus. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 5, p. 433-438, 2006.

VOGLER, I.H; NISHIYA, A; MORIMOTO, H. K; REICHE, E. M. V; BORTOLIERO, A. L; MATSUO, T; SABINO, E. C; VAZ, A.J. Serological, epidemiological and molecular aspects of hepatitis C virus Infection in a population from Londrina, PR, Brazil, 2001-2002. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São. Paulo**, v. 46, n. 6, p. 303-308, 2004.

WASLEY, A; ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. **Seminars Liver Disease**, v. 20, p.1-16, 2000.

World Health Organization (WHO). (2009). *About HIV/AIDS*. Disponível em: <<http://www.who.int/hiv/about/hiv/en>>. Acesso em: 16/06/2014.

APÊNDICE

APÊNDICE 1. QUESTIONÁRIO UTILIZADO NA PESQUISA

I – IDENTIFICAÇÃO:

Local: _____ Data: _____

Nome: _____ Sexo: () M () F

Registro: _____

Local de residência: _____

Procedência: _____

Data de nascimento: |__|__|_|-|__|__|_|-|__|__|_|_|_|

Raça: () Branca () Parda () Negra () Amarela () Indígena () Sem informação

Escolaridade: () Nenhuma () 1 a 3 anos () 4 a 7 anos () 8 a 11 anos () ≥12 anos
() Sem informação

II - TIPO DE EXPOSIÇÃO:

Uso de Droga: () Não

() Sim Qual: _____

() EV () Inalação () Outra _____

() Sem informação

Atividade Sexual: () Sexo com homens

() Sexo com mulheres

() Sexo com homens e mulheres

() Número de parceiros: () 1 a 2 /ano () 2 a 5/ano () > 5/ano

() Sem informação

Transfusão Sanguínea: () Não

() Sim Quando: |__|__|_|-|__|__|_|-|__|__|_|_|_|

() Sem informação

Outros: Tatuagem () Não () Sim () Sem informação

Piercing () Não () Sim () Sem informação

Contato próximo com portador: _____

Hepatite B Sim () quem..... Não () Sem informação ()

Hepatite C Sim () quem..... Não () Sem informação ()

HIV Sim () quem..... Não () Sem informação ()

III – ABUSO DE ÁLCOOL

() Não () Sim () Sem informação () Duvidoso

IV – INVESTIGAÇÃO DE HEPATITE C

Anti-HCV: () Positivo () Negativo () Sem informação () Não realizado

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_| () Sem informação

PCR qualitativo HCV: () Positivo () Negativo () Sem informação () Não realizado

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Genótipo: _____

V – INVESTIGAÇÃO DE HEPATITE B

HBsAg: () Positivo () Negativo () Sem informação () Não realizado

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Anti-HBs: () Positivo () Negativo () Sem informação () Não realizado

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Anti-HBc: () Positivo () Negativo () Sem informação () Não realizado

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

PCR QUANTITATIVA VHB (Anotar pré e durante tratamento)

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_| Valor: _____

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_| Valor: _____

VI – INVESTIGAÇÃO DE HIV

Anti-HIV triagem: () Positivo () Negativo () Sem informação () Não realizado

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Anti-HIV confirmatório: () Positivo () Negativo () Sem informação () Não realizado

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

CD4 nadir (+ baixo): _____ células/ml Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Último CD4: _____ células/ml Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Carga viral nadir (+baixa após início tto): _____ cópias/ml Log _____

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Última carga viral: _____ cópias/ml Log _____

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Subtipo de HIV: _____

Tratamento anti-retroviral:

() Não () Sim Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Terapia anti-retroviral atual:

() AZT (Zidovudina) () 3TC (lamivudina) () AZT+3TC (Biovir)
 () D4T (Estavudina) () DDI (Didanosina) () ABV (Abacavir) () TFV (Tenofovir)
 () FTC (entricitabina) () RTV (Ritonavir) () LPV/RTV (Lopinavir/Ritonavir)
 () ATV (Atazanavir) () APV (Amprenavir) () FAPV (Fosamprenavir)
 () DRV (Darunavir) () TPV (Tipranavir) EFV (Efavirenz) () NVP (Nevirapina)
 () DLV (Delavirdina) () T20 (Inibidor de Fusão/Enfuvirtida)
 () Ral (Raltegravir/Inibidor da Integrase) () CCR5 (Inibidor receptor/Maraviroc)

VII - ECOGRAFIA DE ABDOMEM

Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_| (Última realizada)

Laudo: () Sem alterações () Fígado com bordos irregulares () Veia porta aumentada
 (acima de 12 mmHg) () Esteatose () Ascite () Presença de Nódulos () Área Cística
 Simples () Não realizada

VIII – BIÓPSIAS DE FÍGADO

1) Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_| () Não realizada

Laudo: () Normal

() Alterado

() Amostra inadequada

Código: _____

Grau de Fibrose: () FO () F1 () F2 () F3 () F4

Atividade inflamatória portal (P) () O () 1 () 2 () 3 () 4

Atividade inflamatória periportal (PP) () O () 1 () 2 () 3 () 4

Atividade inflamatória lobular (PA) () O () 1 () 2 () 3 () 4

Outros _____

Esteatose () Sim () Não

Siderose () Sim () Não

2) Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_| () Não realizada

Laudo: () Normal

() Alterado

() Amostra inadequada

Código: _____

Grau de Fibrose: ☐FO ☐ F1 ☐F2 ☐F3 ☐ F4

Atividade inflamatória portal () 0 () 1 () 2 () 3 () 4

Atividade inflamatória periportal () 0 () 1 () 2 () 3 () 4

Atividade inflamatória lobular () 0 () 1 () 2 () 3 () 4

Outros _____

Esteatose () Sim () Não

Siderose () Sim () Não

IX - TRATAMENTO DA HEPATITE B ()Não ()Sim

Data início: | | | - | | | - | | | | |

Droga: () Interferon convencional

() Interferon peguilado

() Lamivudina

☐ Tenofovir

Outro? Qual:

Resposta ao tratamento Hepatite B

() Não () Sim

Última PCR quantitativa Data: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_| Valor: _____

X - TRATAMENTO DA HEPATITE C ()Não ()Sim

PCR quantitativo HCV: ()Positivo Carga Viral_____. Log:_____

()Negativo

()Sem informação

() Não realizado

Data: |__|__|-|__|__|-|__|__|__|__|

1)Data início: |__|__|-|__|__|-|__|__|__|__|

Droga: () Interferon convencional

() Interferon peguilado

() Ribavirina

Resposta ao primeiro tratamento Hepatite C

() Mantém tratamento (PCR com queda de 2 log na 12ª semana ou negativo)

() Resposta nula (PCR sem queda de 2 log na 12ª semana)

☐ Resposta parcial (PCR negativa no final do tratamento)

☐ Resposta Viroológica Sustentada (PCR negativa até 6º mes pós tratamento)

Data término: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

2)Data início: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

Droga: ☐ Interferon convencional

☐ Interferon peguilado

☐ Ribavirina

Resposta ao tratamento Hepatite C

☐ Mantém tratamento (PCR com queda de 2 log na 12ª semana ou negativo)

☐ Resposta nula

☐ Resposta parcial

☐ Resposta Viroológica Sustentada

Data término: |_|_|-|_|_|-|_|_|_|_|

APÊNDICE 2. TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Hepatites Virais e co-infecção HIV
Raboni et al 2010

TCLE – TERMO DE ESCLARECIMENTO LIVRE INFORMADO

TÍTULO DO PROJETO:

“AVALIAÇÃO CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA DAS HEPATITES B E C E CO-INFECÇÃO COM HIV”

Investigador: Sonia Mara Raboni

Local da Pesquisa: Hospital de Clínicas da UFPR e SESA-PR

Endereço e telefone (celular): Av General Caneyro, 181, 3º andar prédio central, CEP: 80.060-900, Curitiba/PR. Fone: 3360-1969 e 8882-4205

PROPÓSITO DA INFORMAÇÃO AO PACIENTE E DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa, coordenada por um profissional de saúde agora denominado pesquisador. Para poder participar, é necessário que você leia este documento com atenção. Ele pode conter palavras que você não entende. Por favor, peça aos responsáveis pelo estudo para explicar qualquer palavra ou procedimento que você não entenda claramente.

O propósito deste documento é dar a você as informações sobre a pesquisa e, se assinado, dará a sua permissão para participar no estudo. O documento descreve o objetivo, procedimentos, benefícios e eventuais riscos ou desconfortos caso queira participar. Você só deve participar do estudo se você quiser. Você pode se recusar a participar ou se retirar deste estudo a qualquer momento.

INTRODUÇÃO

A presença das infecções pelos vírus da hepatite B, hepatite C e do HIV em um mesmo paciente, pode influenciar no tempo de doença, no tipo de medicamento prescrito e na resposta ao tratamento. Do mesmo modo, a formas de contaminação por estes vírus são muito parecidas e conhecer como esta infecção ocorreu com o paciente poderá ajudar na orientação para que outras pessoas não se contaminem.

PROPÓSITO DO ESTUDO

Este estudo pretende:

Conhecer o tipo de vírus HIV presente no paciente em acompanhamento para tratamento da hepatite.

Analisar como está sendo a resposta da doença ao tratamento que o pacientes está utilizando.

SELEÇÃO

Serão incluídos no estudo todos os pacientes adultos, maiores de 18 anos de idade, que tiverem o diagnóstico de infecção pelo vírus HIV e também do vírus da hepatite B ou da hepatite C, em acompanhamento nos ambulatoriais das especialidades (infetologia ou hepatologia) do Hospital de Clínicas ou do Centro regional de especialidades da SESA.

Serão excluídos os pacientes menores de 18 anos de idade e aqueles que tiverem infecção pelo vírus da hepatite B ou hepatite C e NÃO tiverem infecção pelo vírus HIV.


PROCEDIMENTOS

Descreva a metodologia a ser empregada nos voluntários da pesquisa, explicando os benefícios da participação do sujeito, assim como eventuais riscos, desconfortos e medidas de segurança para proteger e/ou reparar os danos advindos da pesquisa.

Para participar do estudo necessitamos colher sangue do pacientes, são necessários a coleta de 5 ml de sangue por meio de punção em veia do braço esquerdo ou direito.

A coleta de sangue pode causar pequeno desconforto ou dor no local em que foi retirado o sangue, esta geralmente desaparece em meia hora.

Não há nenhum risco para você a coleta deste exame.


MARIA JOSE MOCELIN
Membro do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do HC-UFPR
Matrícula 7462

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA:

Sua decisão em participar deste estudo é voluntária. Você pode decidir não participar no estudo. Uma vez que você decidiu participar do estudo, você pode retirar seu consentimento e participação a qualquer momento. Se você decidir não continuar no estudo e retirar sua participação, você não será punido ou perderá qualquer benefício ao qual você tem direito.

CUSTOS

Não haverá nenhum custo a você relacionado aos procedimentos previstos no estudo.

PAGAMENTO PELA PARTICIPAÇÃO

Sua participação é voluntária, portanto você não será pago por sua participação neste estudo.

CONTATO PARA PERGUNTAS

Se você ou seus parentes tiver (em) alguma dúvida com relação ao estudo, direitos do paciente, ou no caso de danos relacionados ao estudo, você deve contatar o Investigador do estudo ou sua equipe (Dra Sonia Raboni/ 8882-4205). Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um paciente de pesquisa, você pode contatar Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone: 3360-1896. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO DO PACIENTE:

Eu li e discuti com o investigador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar, e que eu posso interromper minha participação a qualquer momento sem dar uma razão. Eu concordo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito. Eu entendi a informação apresentada neste termo de consentimento. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas. Eu receberei uma cópia assinada e datada deste Documento de Consentimento Informado.

Nome e assinatura do paciente:

Nome e assinatura do Responsável (se incapacitado):

Nome e assinatura do investigador:

Data: ____/____/____



ANEXO**ANEXO 1. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HC-UFPR**

Curitiba, 23 de novembro de 2010.

Ilmo (a) Sr. (a)
Sonia Mara Raboni
Neste

Prezada Pesquisadora:

Comunicamos que o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido** versão 2010, referente ao Projeto de Pesquisa intitulado "AVALIAÇÃO CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA DAS HEPATITES B E C E CO-INFEÇÃO HIV", foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em 16 de novembro de 2010. O referido documento atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e complementares, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0222.0.208.000-10
Registro CEP: 2304.198/2010-08

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Renato Tambara Filho".

Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR